

Lettre à la rédaction : Place d'un test immunochimique dans le criblage des cannabinoïdes dans le sang total

Pascal KINTZ, Sylviane LOHNER, Catherine SENGLER, Vincent CIRIMELE

Institut de Médecine Légale, 11, rue Humann - 67000 STRASBOURG
Tél : 03 90 24 33 49 - Fax : 03 90 24 33 62 - E-mail : pascal.kintz@wanadoo.fr

(Reçu le 27 novembre 2001 ; accepté le 8 décembre 2001)

Trois études (1-3) publiées en France en 1999 et 2000 ont mis en avant l'incidence majeure du cannabis dans les accidents de la voie publique. Pour la première fois à large échelle, le sang était analysé par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS), seule méthode susceptible d'offrir les garanties nécessaires pour une expertise judiciaire. Le principe actif du cannabis, le THC était retrouvé dans la même proportion chez les conducteurs décédés que chez les blessés.

Les effets négatifs du cannabis sur la conduite automobile sont davantage observés lors d'un usage occasionnel de ce stupéfiant que lors d'un usage fréquent et prolongé. Ils comprennent des modifications de la perception du temps et des distances, des perturbations sensorielles intéressant les sons et surtout la vision sous la forme d'une diplopie, d'une mydriase et d'un nystagmus, des troubles thymiques et dissociatifs polymorphes sous la forme d'euphorie, d'anxiété, d'agressivité ou d'indifférence. La capacité à conduire un

véhicule se trouve donc naturellement modifiée après consommation de cannabis. Différentes études ont pu mettre en évidence une augmentation du temps de réaction et donc une augmentation des distances de freinage et des difficultés à réaliser des manœuvres complexes. D'autres auteurs ont insisté sur la survenue de troubles de la vision augmentés la nuit entraînant une mauvaise appréciation des distances et une augmentation du temps de récupération après éblouissement. Enfin, certains ont montré la survenue de troubles du comportement sous la forme d'une indifférence des conducteurs fautifs après leur accident pouvant conduire à la non-assistance à personne en danger (4).

Le décret n° 2001-751 du 27 août 2001, complété par l'arrêté du 5 septembre 2001 impose la recherche systématique de 4 familles de stupéfiants sur les conducteurs impliqués dans un accident mortel de la circulation. Ces textes détaillent la procédure analytique en faisant du couplage chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse l'unique approche analytique,

tout en fixant des seuils de détection (1 ng/ml pour le THC dans le sang, par exemple).

Un criblage par technique immunochimique pourrait faire gagner du temps dans nos laboratoires, souvent surchargés. Cette approche nécessite néanmoins 2 pré-requis indispensables : absence de faux négatifs (ce qui conduirait à stopper une procédure alors même que le conducteur était sous l'influence du cannabis) et confirmation obligatoire de tous les positifs par une méthode séparative couplée à la spectrométrie de masse.

La mise sur le marché par Cozart Bioscience (Oxfordshire, Royaume Uni) d'un test immunochimique spécifique des applications médico-légales, et donc du sang total (Cannabinoids Microplates EIA Forensic Application) nous a conduit à évaluer sa place dans l'arsenal analytique.

137 échantillons de sang de conducteurs accidentés, recueillis sur une période de 2 mois, ont simultanément été analysés par GC/MS en utilisant la technique recommandée par la SFTA (5) et par immunochimie. Brièvement, la technique immunochimique utilise 25 µl d'échantillon, auquel 100 µl de conjugué enzymatique sont ajoutés pour une incubation de 30 min. Les puits des µ-plaques sont alors lavés 4 fois avec un tampon (350 µl), puis additionnés de 100 µl de substrat et incubés pendant 30 min. La réaction est alors stoppée par 100 µl de solution d'arrêt et l'absorbance finale lue à 450 nm dans la demi-heure. Les calibrateurs sont au nombre de 4, soit 0, 2, 10 et 50 ng/ml en THC-COOH. La réactivité croisée du THC est de l'ordre de 100 à 135 %.

Le seuil de positivité (égal à la limite de quantification) retenu pour la GC/MS était de 0,5 ng/ml pour le THC. Le seuil de positivité du test immunochimique était l'absorbance d'un calibrateur à 2 ng/ml pour le THC-COOH.

Les résultats suivants ont été observés :

	+ par GC/MS	- par GC/MS
+ par EIA	23	10
- par EIA	1	103

Sur les 137 échantillons de sang analysés, l'immuno-chimie a rendu un faux-négatif et 10 faux positifs. La concentration en THC du faux négatif était à 0,9 ng/ml, ce qui constituerait, dans le sens de l'arrêt, un résultat négatif.

Dans le cas des 10 faux positifs (absence de THC et de THC-COOH par GC/MS), une réponse immunochimique équivalente à 2 ng/ml a toujours été observée, soit la concentration du premier calibrateur.

Dans ces conditions, la sensibilité et le spécificité de ce test sont les suivantes :

- sensibilité = vrais positifs / vrais positifs + faux négatifs, soit 95,8 %
- spécificité = vrais négatifs / vrais négatifs + faux positifs, soit 91,2 %

Il apparaît donc que le test immunochimique proposé pour le criblage des cannabinoïdes dans le sang total par Cozart Bioscience peut représenter une alternative intéressante, dès lors que dans tous les cas de réponse positive, une confirmation par GC/MS soit entreprise.

Références

1. Pépin G., Mura P., Kintz P. et al., Recherche de stupéfiants dans le sang de conducteurs d'automobiles : résultats d'une compilation française d'expertises toxicologiques. Toxicorama 1999 ; 11 : 12-6.
2. Mura P., Pépin G., Marquet P. et al., Place des stupéfiants dans les accidents mortels et corporels de la voie publique. Résultats de 169 analyses sanguines réalisées en 1998 et 1999 à la demande d'une autorité judiciaire. Toxicorama 1999 ; 11 : 225-31.
3. Kintz P., Cirimele V., Mairot F., Muhlmann M., Ludes B., Analyses toxicologiques pratiquées sur 198 conducteurs accidentés. Presse Med. 2000 ; 29 : 1275-8.
4. Mura P. Le cannabis. In : Mura P., ed. Alcool, médicaments, stupéfiants et conduite automobile. Elsevier Option Bio, 1999 ; 59-74.
5. Kintz P., Cirimele V., Pépin G., Marquet P., Deveaux M., Mura P., Identification et dosage des cannabinoïdes dans le sang total. Toxicorama 1996 ; 8, 2 : 29-33.