

Revue générale

Pertinence de l'immunochimie pour les services d'urgence hospitalière

Relevance of immunoanalysis for hospital emergency units

Bertrand Brunet, Nicolas Venisse, Yves Papet, Patrick Mura*

Centre Hospitalier Universitaire, Service de toxicologie et pharmacocinétique, BP 577, 86021 Poitiers Cedex, France

Résumé – Qu'il s'agisse de médicaments ou de stupéfiants, grâce aux progrès de l'immunochimie, de nombreux paramètres peuvent aujourd'hui être analysés dans les milieux biologiques en un temps parfaitement compatible avec les exigences cliniques en terme de prise en charge des patients. Il n'en demeure pas moins que compte tenu des nouvelles contraintes budgétaires qui s'imposent à tous les hôpitaux français publics et privés, le rapport bénéfice/coût doit être pris en considération. Cela implique que la décision de pratiquer ou non telle ou telle recherche toxicologique doit s'appuyer sur des arguments pertinents, prenant en compte les symptômes cliniques, le contexte et les résultats biologiques éventuels. Cela implique également une parfaite connaissance des performances des tests pratiqués et tout particulièrement en ce qui concerne la sensibilité et la spécificité. Cette connaissance des limites de l'immunochimie fait partie de la coopération indispensable entre les cliniciens et les biologistes. D'autre part, il est rappelé que dans tous les cas, des prélèvements conservatoires (sang et urine si possible) devront être pratiqués afin de pouvoir ultérieurement procéder à des confirmations éventuelles et/ou à des investigations toxicologiques complémentaires.

Mots clés : Immunochimie, intoxications

Abstract – Whether licit or illicit drug use is suspected, nowadays, since the breakthrough in immunoassay testing, many possibilities are offered to the clinician for screening xenobiotics in different biological specimens, all complying with the emergency context. Taking into account the financial restraint occurring in all private or public hospitals, the benefit/cost ratio must be taken into consideration. This implies that the decision of the immunoassay tests to perform must rely on evidences like clinical symptoms, oral exam or biological results available. It implies also that performances and drawbacks of the immunoassay tests like sensibility, specificity and interferences have to be clearly known by the users. Stating the limitations of the immunoassay test is part of the quality of the result given by the biologist to the clinician. It is worth mentioning that in all cases supplemental samples (blood and urine if available) must be retained for further confirmations with more specific methods and/or for forensic purposes.

Key words: Immunochemistry, intoxications

Reçu le 10 janvier 2008, accepté après modifications le 4 mars 2009

Publication en ligne le 10 Juin 2009

1 Introduction

En France, au cours des 50 dernières années, la fréquence des intoxications médicamenteuses aiguës a augmenté régulièrement et pose aujourd'hui un réel problème de santé publique [1]. Le nombre d'intoxications par antidépresseurs toutes classes confondues est stable, avec un remplacement progressif des tricycliques par les inhibiteurs de la recapture de la sérotonine comme le citalopram et la venlafaxine qui sont responsables de décès chaque année [2]. Si les barbituriques sont présents aujourd'hui dans moins de 5 % des

intoxications volontaires, les benzodiazépines et substances apparentées ainsi que les médicaments cardiotropes sont de plus en plus souvent impliqués. L'augmentation du nombre de consommateurs de drogues se traduit par une plus grande fréquence de ces substances dans les cas d'intoxications. L'approche clinique des patients intoxiqués est principalement fondée sur l'analyse des circonstances de l'intoxication et sur la recherche des signes cliniques [3]. Le développement des techniques immunochimiques a constitué un apport incontestable dans l'aide au diagnostic et au suivi des intoxications aiguës. La facilité de mise en œuvre, la rapidité d'exécution et la possibilité de l'automatisation représentent les principaux atouts. Le nombre de paramètres accessibles par cette technologie est en augmentation constante, dans le domaine des médicaments

* Correspondance : Patrick Mura, Tél. 05 49 44 39 23,
Fax. 05 49 44 38 34, p.mura@chu-poitiers.fr

mais aussi des stupéfiants. Si dans le passé il pouvait être concevable de faire pour toute suspicion d'intoxication une recherche systématique de tous les paramètres disponibles au laboratoire, cela est aujourd'hui inconcevable pour de multiples raisons [4]. En effet, de nouvelles règles de financement ont été mises en place pour les établissements publics et privés avec la tarification à l'activité (T2A) interdisant tout « gaspillage ». La pertinence de la prescription d'un examen biologique ainsi que du choix de la méthodologie utilisée doit tenir compte de cet élément. À côté de ces considérations d'ordre économique, il convient de bien connaître les performances des différents tests immunochimiques, l'existence de réactivités croisées, qui conditionnent bien souvent la pertinence des demandes ainsi que celle des réponses.

2 Quelles analyses pour quels signes cliniques ?

Les patients admis dans les services d'urgence hospitalière pour une suspicion d'intoxication présentent très fréquemment des signes cliniques évocateurs d'un toxique particulier ou d'une famille de substances. La reconnaissance de ces toxidromes peut être importante voire déterminante pour l'efficacité de la prise en charge des patients [5]. L'approche clinique des principales intoxications avec déclinaison des symptômes dans les toxidromes est présentée dans le tableau I [6-9]. S'il est généralement admis que la clinique prime sur l'analyse toxicologique, on peut observer sur les données présentes dans ce tableau que l'observation clinique présente un certain nombre de limites. Les mêmes troubles peuvent être induits par des toxiques différents. Les poly-intoxications sont fréquentes, polymédicamenteuses ou associant des médicaments et des drogues, ce qui rend très difficile la mise en adéquation entre les signes cliniques et/ou biologiques et l'orientation vers telle ou telle recherche de toxiques. D'autre part, dans certains cas d'intoxications les symptômes cliniques sont souvent discrets voire inexistant [1] lors de l'admission dans les services d'urgence : c'est par exemple le cas du paracétamol ou de certains champignons comme l'amanite phalloïde.

3 Les recherches par familles de substances : les pièges à éviter

3.1 Analyse qualitative

La recherche qualitative des benzodiazépines, des antidépresseurs tricycliques, des cannabinoïdes, des amphétamines, des opiacés et de la cocaïne peut s'avérer être très utile [6, 10] mais les résultats obtenus doivent être interprétés avec la plus grande prudence. Lors des recherches par famille, les anticorps utilisés (différents selon les tests immunochimiques) sont dirigés contre une des substances appartenant à la famille considérée. Ce choix est déterminé par chaque société commerciale, en essayant de trouver un bon compromis entre spécificité et sensibilité [11]. Les autres molécules de la famille seront détectées grâce à l'existence de réactivités croisées. Ces réactivités croisées conditionnent la sensibilité obtenue pour chacune

des molécules de la famille et, ce faisant, les seuils de positivité. Il est donc essentiel de bien connaître, pour chacune des molécules de la famille, les concentrations nécessaires pour induire un résultat positif. À titre d'exemple, les tableaux II et III indiquent pour un certain nombre de molécules les concentrations nécessaires pour obtenir un résultat positif dans le sérum avec les réactifs DRI[®] Sérum Tox de Microgenics avec en regard les concentrations considérées comme potentiellement toxiques [12, 13].

Concernant les benzodiazépines, on peut observer que dans un certain nombre de cas (alprazolam, bromazépam, lorazépam et triazolam), les concentrations minimales nécessaires pour induire une réponse positive sont supérieures aux concentrations minimales toxiques. En conséquence, des intoxications par ces substances ne seront pas détectables par un dépistage immunochimique effectué avec ces réactifs (résultats faussement négatifs). Il en va de même pour toutes les substances apparentées aux benzodiazépines comme le zolpidem ou le zopiclone qui ne sont pas reconnues par les anticorps. L'utilisation du flumazénil (Anexate[®]), un antagoniste des benzodiazépines et des molécules apparentées, ne doit pas en principe être proposé comme un moyen de diagnostic en raison des risques importants liés à son administration (en particulier crises convulsives, troubles du rythme).

Concernant les antidépresseurs, des résultats faussement négatifs en cas d'intoxication par des antidépresseurs non tricycliques pourront être observés avec l'amoxapine, la doxépine, la trimipramine et la maprotiline. Il en sera de même avec tous les inhibiteurs de la recapture de la sérotonine qui ne présentent pas de structure tricyclique et qui ne sont pas reconnus par l'anticorps. En revanche des composés non antidépresseurs pourront, lorsqu'ils sont présents dans le sang à de fortes concentrations, fournir une réponse positive (faux positifs), dont essentiellement certaines phénothiazines. Cette observation est valable pour tous les réactifs immunochimiques actuellement proposés pour le dépistage des antidépresseurs tricycliques.

Le dépistage sérique ou urinaire des **barbituriques** pouvait être de grande utilité dans le passé. Aujourd'hui, le phénobarbital demeure le seul barbiturique prescrit en France (à l'exception du thiopental utilisé en anesthésie). En cas de suspicion d'intoxication par des barbituriques, il est donc beaucoup plus pertinent de réaliser d'emblée le dosage sanguin du phénobarbital.

La **recherche urinaire des opiacés** est également à interpréter avec la plus grande prudence. En effet, une réponse positive témoignera uniquement de la présence d'un noyau morphinane mais ne permettra pas d'indiquer la nature de l'opiacé (morphine, héroïne, codéine, codéthyline, etc.). La buprénorphine qui n'a pas de noyau morphinane n'est pas reconnue par l'anticorps. Seule une analyse complémentaire par des méthodes chromatographiques couplées à la spectrométrie de masse (GC-MS, LC-MS-MS) permettront une identification précise.

Avec les **amphétamines** et quelque soit le réactif de dépistage urinaire utilisé, le nombre de substances susceptibles d'induire un résultat faussement positif est très important, médicaments et métabolites y compris avec des substances n'ayant aucune propriété pharmacologique, comme la benzathine [14].

Tableau I. Symptômes cliniques et biologiques et produits associés. Les paramètres identifiables par méthodes immunochimiques sont précisés par un astérisque.

Symptômes		Produits
Troubles neurologiques	Troubles de la vigilance	Alcools Antidépresseurs* Barbituriques* Benzodiazépines* Carbamates Opiacés* Oxyde de carbone Phénothiazines
	Crises convulsives	Amphétamines* Antidépresseurs* Chloralose Isoniazide Salicylés Strychnine Théophylline*
Troubles ventilatoires	Hypoventilation	Barbituriques rapides* Benzodiazépines* Bêta-bloqueurs Opiacés*
	Hyperventilation	Oxyde de carbone Salicylés
Troubles cardiovasculaires	Troubles du rythme/conduction	Amphétamines* Antidépresseurs* Antirouilles Bêta-bloqueurs Carbamazépine* Chloroquine Cocaïne* Digitaliques* Quinine et quinidine Solvants chlorés Théophylline*
	Hypotension	Antidépresseurs* Barbituriques rapides* Bêta-bloqueurs Carbamates Colchicine Cyanures Éthanol Phénothiazines
Diamètre pupillaire	Myosis	Barbituriques* Opiacés*
	Mydriase	Amphétamines* Antidépresseurs* Atropine Cannabis*

Tableau I. Suite.

		Carbamates Carbamazépine* Cocaïne*
Divers symptômes	Alopécie	Colchicine
	Cyanose	Méthémoglobinisants
	Encéphalopathie	Aluminium Champignons Plomb
	Hémorragies	Anticoagulants AVK Héparine et dérivés
	Hépatite aiguë	Amanite phalloïde Paracétamol* Solvants
	Hypothermie	Barbituriques* Éthanol Psychotropes
	Insuffisance médullaire	Colchicine Méthotrexate*
	Insuffisance rénale aiguë	Éthylène-glycol Fer Hypoglycémiant
	Myoclonies	Chloralose Lithium
	Syndrome adrénergique	Théophylline*
	Syndrome cholérimforme	Champignons (phalloïde) Colchicine
	Syndrome cholinergique et Syndrome nicotinique	Pesticides anticholinestérasiques
Signes biologiques	Acidose métabolique	Éthylène glycol Méthanol Salicylés
	Hypoglycémie	Alcools Antidiabétiques Champignons (phalloïde) Colchicine Dextropropoxyphène* Oxyde de carbone
	Hypokaliémie	Bêta-adrénergiques Champignons Chloroquine Colchicine Corticoïdes Digitaliques* Diurétiques Théophylline*

Tableau II. Test DRI® Benzodiazépines Sérum Tox : concentrations de benzodiazépines nécessaires pour produire un résultat positif (calibrateur : diazépam à 50 ng/mL).

Composé	ng/mL	Concentration minimale toxique
Alprazolam	200	100
Bromazépam	750	300
Chlordiazépoxide	3000	3000
Clonazépam	150	1000
Diazépam	50	1500
Flunitrazépam	50	50
Lorazépam	600	300
Nitrazépam	100	1000
Nordiazépam	50	1500
Oxazépam	200	2000
Témazépam	70	1000
Triazolam	50	40

3.2 Analyse semi-quantitative

Certaines sociétés de l'industrie du diagnostic proposent de réaliser une détermination semi-quantitative, en utilisant plusieurs calibrateurs. Une telle approche doit être proscrite. En effet, l'existence de réactivités croisées différentes selon les molécules interdit formellement cette pratique, qui est susceptible d'induire de grossières erreurs. Prenons le cas d'un patient intoxiqué au bromazépam avec une concentration sanguine de 800 ng/mL. Une détermination semi-quantitative indiquerait une légère positivité (une croix) alors que nous sommes en réalité proches des concentrations considérées comme létales. À l'inverse, une très forte positivité avec le nordiazépam ne traduirait pas obligatoirement un risque élevé de toxicité.

4 Pertinence de l'immunochimie – autres éléments à prendre en compte

4.1 Digoxine [15]

La possibilité de doser la digoxinémie par méthode immuno-chimique est d'une très grande utilité, en raison d'un index thérapeutique faible, ce dosage étant par ailleurs très difficile à réaliser par d'autres technologies. Cette détermination devient plus compliquée lorsque le patient est traité par fragments Fab d'immunoglobulines antidigitaliques. Dans ce cas, le suivi des cinétiques des concentrations de digoxine « libre » permet de s'assurer de l'efficacité du traitement antidotique et d'anticiper une recrudescence de la toxicité. La méthode de choix est l'immunodosage de la digoxine dans l'ultrafiltrat du sérum. Toutefois, cette technique est mal adaptée à l'urgence et certains immunodosages présentent un « effet matrice ». Le dosage de la digoxine directement dans le sérum sans avoir recours à l'ultrafiltration peut être envisagé. La validité du résultat obtenu dépend de la nature de l'immunodosage et des concentrations sériques des fragments Fab. Les immunodosages compétitifs

Tableau III. Test DRI® Tricycliques Sérum Tox : concentrations d'antidépresseurs tricycliques nécessaires pour produire un résultat positif (calibrateur : nortriptyline à 300 ng/mL).

Composé	ng/mL	Concentration minimale toxique
Amitriptyline	250	1000
Amoxapine	>100 000	500
Clomipramine	350	1000
Doxépine	550	100
Imipramine	200	400
Trimipramine	500	500

donnent des résultats inexacts. La technique par polarisation de fluorescence dose, en la sous-estimant, la digoxine « totale ». Mesurée 24 h et 48 h après l'injection de l'antidote, les concentrations de digoxine « totale » permettent de calculer le temps de demi-vie des complexes digoxine-fragments Fab et de déterminer quand la digoxine doit être, si nécessaire, réintroduite.

4.2 Méthotrexate

Le méthotrexate est très utilisé par voie veineuse dans le traitement des maladies néoplasiques. Dans ces indications le méthotrexate peut être utilisé à haute dose en réduisant sa toxicité grâce notamment à l'administration séquentielle d'acide folinique. La mesure des concentrations plasmatiques de méthotrexate est alors essentiellement utilisée pour déterminer la dose et la durée d'administration de l'acide folinique [16]. Dans cette indication, il est nécessaire d'avoir une excellente fiabilité dans les très basses concentrations ; la polarisation de fluorescence est alors particulièrement appropriée.

Le méthotrexate est aussi utilisé à faible dose par voie orale dans certaines maladies dys-immunitaires telle que la polyarthrite rhumatoïde. Bien que prescrit à faible dose dans ces indications, le méthotrexate peut être à l'origine d'intoxications [17–20] qui sont souvent consécutives à des erreurs de prescription, de dispensation ou d'administration. Une erreur fréquemment rapportée est la prise quotidienne d'une dose théoriquement prescrite pour une semaine [21]. Lors de ces intoxications le dosage du méthotrexate peut être utile pour caractériser ou confirmer la gravité de l'intoxication et pour guider le traitement qui fait appel à l'administration d'acide folinique qui est initiée parallèlement à la mise en œuvre des méthodes classiques d'épuration [22].

4.3 Le paracétamol

Il provoque une cytolysé hépatique deux à trois jours après sa prise pour une dose ingérée supérieure ou égale à 125 mg/kg, soit 5–15 g pour l'adulte. Le risque hépatique est de 50 % si la dose est de 250 mg/kg et de 100 % pour 300 mg/kg [23]. Les signes cliniques, non spécifiques, sont absents dans les 48 à 72 heures qui suivent l'intoxication et les signes biologiques sont tardifs : les transaminases commencent à augmenter 12 à 24 heures après la prise avec un

pic vers le troisième et le quatrième jour. Dans les formes les plus graves, une hépatite fulminante se développe en trois à six jours, avec une mortalité atteignant 50 %. La paracétamolémie mesurée entre 4 et 16 heures après l'ingestion est un bon indicateur de gravité. Une étude récente, réalisée sur 100 échantillons urinaires provenant de patients bénéficiant d'un traitement par la méthadone, nous a permis de montrer que 46 % d'entre eux consommaient quotidiennement du paracétamol, s'exposant ainsi à un risque d'intoxication chronique. Compte tenu de tous ces éléments, il serait pertinent de rechercher plus souvent le paracétamol chez les patients supposés ou connus comme toxicomanes et plus généralement dans tous les cas où une poly-intoxication est soupçonnée.

4.4 Benzodiazépines et buprénorphine

L'association de benzodiazépines et de buprénorphine expose au risque de décès par dépression respiratoire d'origine centrale et de nombreux cas ont été rapportés dans la littérature [24]. Dans l'attente de pouvoir caractériser les sujets à risque, une contribution pharmacogénétique ayant été envisagée [25] il serait pertinent, avant de prescrire des benzodiazépines, d'effectuer une recherche urinaire de buprénorphine chez tout patient pour lequel une prise de Subutex® peut être envisagée. Inversement, lorsqu'un patient bénéficiant de Subutex® présente des signes de dépression respiratoire d'origine centrale, il serait pertinent de rechercher systématiquement une prise concomitante de benzodiazépines.

5 L'utilisation de « bandelettes réactives » aux urgences hospitalières. Quelle pertinence ?

Dans le domaine de la sécurité routière, l'intérêt de pouvoir dépister chez les conducteurs la présence de stupéfiants dans les urines ou la salive « au bord de la route » est d'un intérêt indiscutable. Il en va de même dans certains cas dans le domaine de la toxicomanie en milieu professionnel, chez les personnels navigants par exemple. Certains auteurs ont aussi proposé d'organiser ces dépistages dans les centres de soins pour toxicomanes au moment des consultations [26]. L'intérêt est certain, sous réserve que cela soit réalisé dans le cadre d'un partenariat avec un laboratoire de toxicologie, qui puisse valider les résultats et résoudre les litiges par l'utilisation de méthodes séparatives.

En plus des drogues, de nombreux fournisseurs proposent aujourd'hui des outils permettant de dépister simultanément une dizaine de substances, dont des médicaments ou familles de médicaments. Certains urgentistes pourraient alors être séduits par la possibilité de faire une « toxicologie au lit du malade » avec de tels tests. Lorsque l'établissement hospitalier dispose d'un laboratoire pouvant réaliser des analyses toxicologiques, cette démarche ne serait aucunement pertinente en raison du coût très élevé de ces tests sur « bandelette » mais également compte tenu des problèmes de fiabilité mentionnés précédemment. En revanche, lorsqu'il n'y a pas de laboratoire à proximité susceptible de rendre un résultat en urgence, cette

toxicologie délocalisée dans les services d'urgence peut être envisagée, à condition que cela soit réalisé dans le cadre d'un partenariat avec un laboratoire de toxicologie du département ou de la région.

6 Les prélèvements conservatoires, une obligation de moyens

Compte tenu du nombre limité de molécules accessibles à l'immunochimie et de la possibilité de résultats faussement positifs ou faussement négatifs, il est indispensable que des prélèvements de sang périphérique et si possible d'urine soient effectués à l'admission à titre conservatoire [6]. En fonction de l'évolution clinique, ces prélèvements permettront de réaliser les investigations complémentaires utiles.

7 Conclusion

Pour les services d'urgence hospitalière, l'utilisation de l'immunochimie est globalement très pertinente car elle permet dans bon nombre de cas d'identifier (voire de quantifier) très rapidement les toxiques en cause, sous réserve de (i) ne pas en abuser inutilement, (ii) mettre en adéquation les nouvelles pratiques de prescriptions et de consommations et les tests pratiqués, (iii) en connaître les limites et les faire savoir aux urgentistes dans le cadre d'une coopération clinico-biologique indispensable, (iv) pratiquer dès l'admission des prélèvements conservatoires qui permettront ultérieurement de confirmer les résultats par des méthodes séparatives et surtout de procéder à des investigations complémentaires.

Références

- Goullé JP, Lacroix C. L'analyse toxicologique à l'aube du troisième millénaire. *Ann Biol Clin.* 2001; 59(5): 605–612.
- Adnet F, Atout S, Galinski M, Lapostolle F. Évolution des intoxications médicamenteuses volontaires en France. *Réanimation.* 2005; 14(8): 721–726.
- Mégarbane B, Baud FJ. Interest of toxicological analysis for poisonings. *Rev Prat.* 2008; 58(8): 838–843.
- Eldridge DL, Holstege CP. Utilizing the laboratory in the poisoned patient. *Clin Lab Med.* 2006; 26(1): 13–30.
- Wu AHB *et al.* National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines: Recommendations for the use of laboratory tests to support poisoned patients who present to the emergency department. *Clin Chem.* 2003; 49(3): 357–379.
- Goullé JP *et coll.* Biomarqueurs de toxicité et anomalies métaboliques dans les principales intoxications graves. Symptomatologie clinique et toxique. Le prélèvement conservatoire. *Ann Toxicol Anal.* 2003; 15: 208–220.
- Capolaghi B, Moulsmas M, Houdret N, Baud FJ. Stratégies analytiques en toxicologie d'urgence. *Ann Toxicol Anal.* 2000; 12: 274–281.
- Descotes J, Testud F, Frantz P. Les urgences en toxicologie. Paris : Éditions Maloine, 1992.

9. Bismuth C, Baud F, Conso F, Fréjaville JP, Garnier R. Séméiologie et thérapeutique des intoxications. In : Toxicologie clinique. Paris : Éditions Flammarion, 1987 : 28–54.
10. Goullé JP, Saussereau E, Guerbet M, Lacroix C. Immunochimie: quelle place en 2008 ? *Ann Toxicol Anal.* 2009; 21(1): 49–53.
11. Mura P, Thebault P, Papet Y, Piriou A. Le seuil de positivité en toxicologie d'urgence : nécessité ou inconvéient ? *Toxicorama.* 1993; 5: 31–36.
12. Therapeutic and toxic drug concentrations list. http://www.tiaft.org/tmembers/ttv/ttv_all.html.
13. Flanagan RJ. Guidelines for the interpretation of analytical toxicology results and unit of measurement conversion factors. *Ann Clin Biochem.* 1998; 35: 261–267.
14. Mura P, Berthier M, Piriou A, Bonneau D, Oriot D. Benzathine as a cause for a false-positive test result for amphetamines. *J Pediatr.* 1995; 127: 669–670.
15. Parant F, Ducluzeau R, Lardet G, Gagnieur MC, Moulisma M. Suivi des digoxinémies chez des patients traités par fragments Fab antidigitaliques : un défi pour le biologiste. *Ann Biol Clin.* 2003; 61(6): 645–653.
16. Marquet P, Carpentier N, Milano G, Thyss A, Favre R. Suivi thérapeutique du méthotrexate. In: Marquet P. Suivi Thérapeutique Pharmacologique pour l'adaptation de posologie des médicaments. Paris : Elsevier, 2004 : 223–235.
17. Boulanger H, Launay-Vacher V, Hierniaux P, Fau JB, Deray G. Severe methotrexate intoxication in a haemodialysis patient treated for rheumatoid arthritis. *Nephrol Dial Transplant.* 2001; 16: 1087.
18. Maignen F, Guillot B, Pierron E, Julian S, Castot A. Acute methotrexate poisoning: apropos of 16 cases reported to the Paris Poison Control Center and review of the literature. *Thérapie.* 1996; 51: 527–531.
19. Moisa A, Fritz P, Benz D, Wehner HD. Iatrogenically-related, fatal methotrexate intoxication: a series of four cases. *Forensic Sci Int.* 2006; 156: 154–157.
20. Yeoh S, Siderov J. Methotrexate misadventure: a case for counselling. *Rheumatology (Oxford).* 2001; 40: 230–232.
21. Anonyme. Oral methotrexate: preventing avoidable overdose. *Prescrire Int.* 2007; 16: 150–152.
22. Gibbon BN, Manthey DE. Pediatric case of accidental oral overdose of methotrexate. *Ann Emerg Med.* 1999; 34: 98–100.
23. Megarbane B, Alazia M, Baud F. Intoxication grave de l'adulte : épidémiologie, définition, critères d'admission en réanimation. *Réanimation.* 2006; 15(5): 354–363.
24. Kintz P. Deaths involving buprenorphine: a compendium of French Cases. *Forensic Sci Int.* 2001; 121: 65–69.
25. Gaulier JM, Bouanani S, Ricordel I, Mura P, Brunet B, Bidaud M, Moulisma M, Parant F, Nacache L, Pelissier AL, Lachatre G, Marquet P. Recherche d'une contribution pharmacogénétique aux décès observés à la suite de l'administration, licite ou illicite, de buprénorphine haut dosage : résultats d'une étude préliminaire multicentrique. *Ann Toxicol Anal.* 2007; 19(2): 179–180.
26. Mura P, Papet Y, Guignard I, Brunet B. Évaluation et intérêt du test Multiscreen 10 (BUP/MDT) pour les patients d'un centre de soins pour toxicomanes. Un exemple de toxicologie délocalisée. *Ann Toxicol Anal.* 2007; 19(2): 183.