

Les analyses toxicologiques sur Paracelse

Valérie Baga, Stéphanie Chaffarod

► To cite this version:

Valérie Baga, Stéphanie Chaffarod. Les analyses toxicologiques sur Paracelse. Sciences pharmaceutiques. 2001. <dumas-01468386>

HAL Id: dumas-01468386

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01468386>

Submitted on 15 Feb 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SID de Grenoble :
bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

<http://www.cfcopies.com/juridique/droit-auteur>

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



1^{er} exemplaire

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE

Année : 2001

N° d'ordre : 7020

LES ANALYSES TOXICOLOGIQUES
SUR PARACELSE

THESE
PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN PHARMACIE
DIPLOME D'ETAT

Melle BAGA Valérie

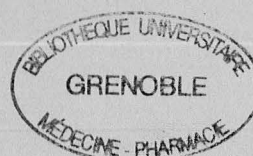
Melle CHAFFAROD Stéphanie

[Données à caractère personnel]

Thèse soutenue publiquement le 11 Mai 2001, à 18 heures.

Devant le jury composé de :

Madame le professeur J. ALARY, président du jury
Monsieur le professeur J-L BENOIT-GUYOD
Monsieur le docteur V. DANIEL
Madame le docteur F. VINCENT



**UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE**

Année : 2001

N° d'ordre :

**LES ANALYSES TOXICOLOGIQUES
SUR PARACELSE**

THESE
PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN PHARMACIE
DIPLOME D'ETAT

Melle BAGA Valérie

Melle CHAFFAROD Stéphanie

[Données à caractère personnel]

Thèse soutenue publiquement le 11 Mai 2001, à 18 heures.

Devant le jury composé de :

Madame le professeur J. ALARY, président du jury

Monsieur le professeur J-L BENOIT-GUYOD

Monsieur le docteur V. DANEL

Madame le docteur F. VINCENT



UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE
Domaine de la Merci 38700 LA TRONCHE

Doyen de la Faculté

M. le Professeur P. DEMENGE

Vice Doyen

M. le Professeur J. CALOP

PROFESSEURS DE PHARMACIE

ALARY	<i>Josette</i>	<i>Chimie Analytique</i>
BAKRI	<i>Abdelaziz</i>	<i>Pharmacie Galénique</i>
BENOIT-GUYOD	<i>Jean-Louis</i>	<i>Chimie Toxicologie et Eco-toxicologie</i>
CALOP	<i>Jean</i>	<i>Pharmacie Clinique et Bio-technique</i>
CUSSAC	<i>Max</i>	<i>Chimie Thérapeutique</i>
DECOUT	<i>Jean-Luc</i>	<i>Chimie Générale</i>
DEMENGE	<i>Pierre</i>	<i>Physiologie/Pharmacologie</i>
DROUET	<i>Emmanuel</i>	<i>Microbiologie-Immunologie</i>
FAVIER	<i>Alain</i>	<i>Biochimie</i>
GOULON	<i>Chantal</i>	<i>Physique-Pharmacie</i>
GRILLOT	<i>Renée</i>	<i>Parasitologie</i>
MARIOTTE	<i>Anne-Marie</i>	<i>Pharmacognosie</i>
RIBUOT	<i>Christophe</i>	<i>Physiologie-Pharmacologie</i>
ROUSSEL	<i>Anne-Marie</i>	<i>Biochimie</i>
SEIGLE-MURANDI	<i>Françoise</i>	<i>Botanique et Cryptogamie</i>
STEIMAN	<i>Régine</i>	<i>Biologie Cellulaire</i>
WOUESSIDJEWÉ	<i>Denis</i>	<i>Pharmacie Galénique</i>

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier :

- ***Madame Françoise VINCENT***, docteur en pharmacie au CHU de Grenoble, pour ses conseils tout au long de notre travail.
- ***Madame Josette ALARY***, professeur à la faculté de pharmacie de Grenoble, pour sa disponibilité, sa gentillesse, la qualité de son enseignement et pour avoir accepté de présider notre thèse.
- ***Madame Salhia BOUSSANDEL***, secrétaire médicale au CHU de Grenoble, pour son aide précieuse et ses conseils en informatique.
- ***Monsieur Vincent DANEL***, docteur en médecine au CHU de Grenoble, pour nous avoir encadrées et suivies lors de l'élaboration de ce travail.
- ***Monsieur Jean-Louis BENOIT-GUYOD***, professeur à la faculté de pharmacie de Grenoble, pour avoir accepté de faire partie au jury.

Valérie

A mes parents,

A mes grand-parents,

A mes amis les plus fidèles,

A Stéphanie, pour sa patience, sa gentillesse et pour toutes
ces années d'étude et de fous rires partagés

A Rodolphe.

Stéphanie

A mes parents, pour leur soutien durant toutes ces années d'études,

A ma sœur,

A toute ma famille,

A Valérie, pour son amitié, sa patience et pour avoir été un binôme de choc jusqu'au bout de nos études !

A tous mes amis : Sandrine, Eric, Stéphanie, Stéphane, Séverine, Laurent, Aurore, Jean-Loïc, Delphine, Nicolas, Laure, Rodolphe, Christine, Fabrice, Carole, Florence, Alexandra.

TABLE DES MATIERES

➤ Introduction	7
➤ Présentation	
- Présentation de Paracelse	8
- L'analyse toxicologique sur Paracelse : ce qui existe	9
- Objectif de notre travail	11
- Matériel et méthodes	11
- Résultats	12
- Conclusion	17
➤ Module « Analyse Toxicologique »	
- Accueil	19
- Points essentiels	20
- Indications de l'analyse toxicologique	23
- Le prélèvement	34
- Méthodes d'analyse :	46
▪ Les techniques colorimétriques	47
▪ La spectrométrie d'absorption atomique	49
▪ L'immunochimie	52
▪ Les techniques chromatographiques	71
- Choix de la démarche analytique	93
- Taux thérapeutiques, taux toxiques	108
➤ Conclusions	115
➤ Lexique	117
➤ Bibliographie	118

Introduction

Les intoxications aiguës ont représenté au cours de l'année 2000 une des premières causes d'hospitalisation dans les pays développés, et de décès des individus de moins de 30 ans dans les pays en voie de développement.

En France, au service d'accueil des urgences, l'exposition aiguë à des toxiques, accidentelle ou volontaire, est une cause fréquente de visite. Le nombre d'intoxications aiguës est en constante augmentation : ainsi la charge de travail « toxicologique » est de plus en plus lourde, à l'origine d'une demande trop systématique d'analyses spécialisées.

Suite au développement des techniques d'analyses toxicologiques au cours des dernières décennies, le clinicien a actuellement la possibilité de demander des analyses quantitatives ou qualitatives de la plupart des toxiques incriminés dans les intoxications aiguës. Il doit cependant avoir une connaissance au moins rudimentaire de ces méthodes pour comprendre leurs limites et les délais nécessaires à leur réalisation.

La collaboration clinico-biologique s'avère alors nécessaire pour une meilleure prise en charge du patient : cet échange permet une véritable mise en commun de compétences différentes.

En conséquence, la stratégie analytique à adopter sera le fruit d'une collaboration clinico-analytique étroite comprenant :

- l'approche clinique (anamnèse, signes cliniques)
- l'approche biologique (gazométrie, ionogramme, ...)
- la connaissance des limites et des intérêts des différentes méthodes disponibles

Les analyses toxicologiques en milieu hospitalier ont donc fait l'objet de notre travail. Nous avons construit un module informatique sur Paracelse, afin de présenter les différents aspects de cette discipline à un public le plus large possible.

1 Présentation de Paracelse

1.1 Historique

Philippus Theophrastus Aureolus Bombastus von Hohenheim dit Paracelse (1493-1541): Paracelse doit son surnom à la traduction gréco-romaine d'une partie de son nom (Hohenheim) qui signifie « près du ciel ».

Médecin et alchimiste suisse, sa doctrine a pour fondement une correspondance entre le monde extérieur et les différentes parties du corps humain.

Son œuvre considérable comprend des écrits religieux et médicaux. En médecine, ses traités portent sur la chimie, l'épilepsie, la syphilis, la peste, les cures thermales.

À propos du traitement de la syphilis, les médecins de l'époque utilisaient des sels de mercure à forte dose : Paracelse s'opposait à cette pratique et prônait l'utilisation de doses modérées.

Ainsi Paracelse restera connu en toxicologie pour avoir écrit :

« Tout est poison, rien n'est poison,
c'est la dose qui fait le poison ».

1.2 Le serveur Paracelse

Paracelse est un serveur de toxicologie clinique, créé en 1995 par les Dr Vincent Danel et Dr Daniel Pagonis : c'est une base de connaissance sur les intoxications humaines aiguës.

Il regroupe différents thèmes :

- Protocoles :
 - Champignons
 - Plantes
 - Produits domestiques et industriels. Polluants atmosphériques
 - Produits non toxiques
 - Médicaments
 - Envenimations
 - Aliments
- Antidotes
- Syndromes
- Doses toxiques
- Traitements
- Analyse toxicologique

Paracelse est implanté sur le World Wide Web du réseau Internet et dans le réseau hospitalier local « Intranet ».

Le logiciel présent à l'écran est Netscape : il permet de « surfer sur le net » très facilement, que l'on soit sur Apple Macintosh ou sur compatible PC.

Les techniques utilisées sont celles de l'hypermédia (combinaison de l'hypertexte et du multimédia).

Grâce au langage HTML (Hypertexte Markup Language) qui permet de créer des liens hypertexte vers d'autres documents, Paracelse est un outil informatique convivial ; l'accès à l'information est facilité par la recherche hypertexte.

1.3 Organigramme : schéma

1.4 Utilisation de Paracelse

D'un simple clic de souris, on circule aisément dans Paracelse :

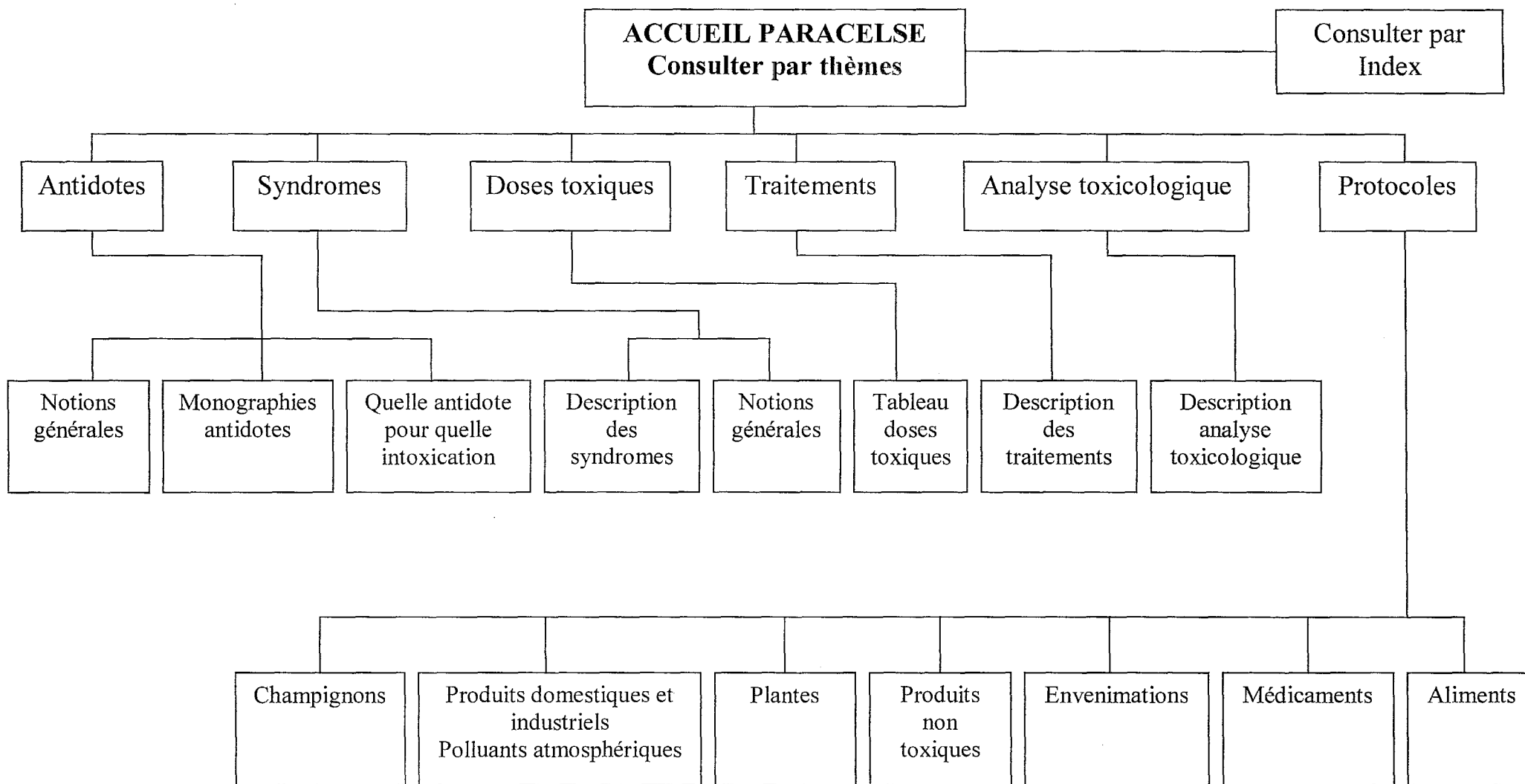
- Clic sur un hypermot (mot de couleur bleue et souligné) : il conduit à d'autres écrans détaillant l'hypermot en question.
Si l'hypermot a été sélectionné précédemment, il passe du bleu au rouge mauve
- Clic sur une icône : il permet de visualiser une image
- Utilisation des fonctions intrinsèques à Netscape Navigator :
 - « Back » : permet de retourner à l'écran précédent
 - « Forward » : permet d'accéder à l'écran suivant
 - « Home » : permet de revenir à la page d'accueil

2 L'analyse toxicologique sur Paracelse : ce qui existe

Le module « analyse toxicologique » existant sur Paracelse rappelait brièvement les grandes lignes de l'analyse en toxicologie.

L'écran principal développait 3 notions :

- « Points essentiels » : en quelques lignes, était présenté l'intérêt de l'analyse toxicologique.
Aucun hypermot n'était inséré dans ce paragraphe.
- « Le point de vue du clinicien » : où l'on pouvait retrouver succinctement le raisonnement du clinicien face à une intoxication.
Aucun hypermot n'était inséré dans ce paragraphe.
- « Le point de vue de l'analyste ». 5 hypermots étaient intégrés dans ce paragraphe :
 - « Nature de l'échantillon »
 - « Recherche globale (screening) »
 - « Techniques immunoenzymatiques »
 - « Techniques chromatographiques »
 - « Quelques taux plasmatiques toxiques »



Organisation du serveur Paracelse

En cliquant sur un hypermot, on accède à un autre écran, qui détaillera les notions de l'hypermot sélectionné : c'est un écran détaillé.

A partir de chaque écran détaillé, on pouvait revenir à l'écran principal « analyse toxicologique » grâce à l'hypermot « analyse toxicologique » situé en bas de chaque écran détaillé.

Les écrans détaillés « Techniques immunoenzymatiques » et « Techniques chromatographiques » étaient composés de 3 paragraphes :

- Principe
- Appareillage (avec une photo)
- Résultats

3 Objectif de notre travail

Notre objectif était de développer le thème de l'analyse toxicologique en milieu hospitalier, en utilisant le logiciel Page Mill, afin d'avoir une présentation finale adaptée à l'outil Internet. Nous avons voulu présenter l'analyse toxicologique à un public non spécialisé. De ce fait nous avons tenté de répondre à des questions simples comme :

- Qu'est-ce que l'analyse toxicologique ?
- Quelle est son utilité ?
- Quelles sont les techniques utilisées ? ...

4 Matériel et méthodes

4.1 Utilisation du logiciel Page Mill

Ce logiciel est adapté à la conception de documents Internet.

Il nous a permis de construire les écrans principaux et détaillés : ceux-ci sont reliés par des hypermots.

Certains écrans détaillés sont mis eux aussi en relation par des hypermots.

Nous avons aussi inséré :

- des tableaux (pour faciliter la lecture de l'écran)
- des images (schémas préalablement réalisés dans Power Point, schémas scannés).

Nous avons adopté un style télégraphique qui facilitent la navigation à l'intérieur du module. Différents types de puces sont employés pour hiérarchiser le texte.

4.2 Recherche bibliographique

Nous avons ciblé notre recherche sur des articles, livres relativement récents (5 dernières années).

Selon la rubrique que nous avons à développer, nous nous sommes basées sur :

- des articles très généraux :
 - pour établir les écrans principaux
 - pour présenter le thème abordé
- des articles plus spécifiques :
 - pour détailler des mécanismes
 - pour donner des exemples

Notre difficulté a été de sélectionner les données essentielles de chaque article et de les organiser dans le module « analyse toxicologique », pour rendre cet outil informatique le plus pédagogique possible.

4.3 Organisation du module « Analyse toxicologique »

4.3.1 La page d'accueil

La page d'accueil constitue l'écran principal, qui permet d'accéder aux différentes parties du module :

- Points essentiels
- Indications de l'analyse toxicologique
- Prélèvements : nature de l'échantillon
- Méthodes d'analyse
- Choix de la démarche analytique
- Taux thérapeutiques, taux toxiques

En cliquant sur chacun de ces hypermots, on accède au contenu des différents chapitres.

4.3.2 Construction des écrans

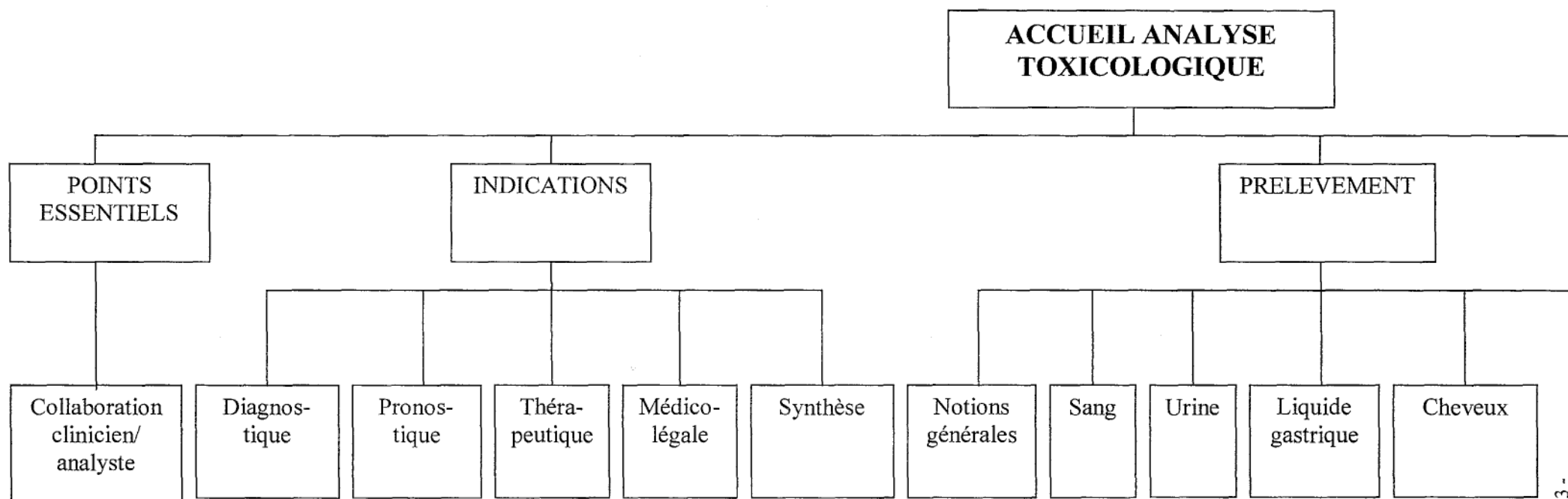
Nous avons hiérarchisé les informations à inclure dans le module. En effet, chaque écran principal expose des généralités. A partir de ces écrans, on accède à des données plus spécifiques par un chemin logique.

Chaque page ne doit pas être trop longue pour faciliter la lecture à l'écran

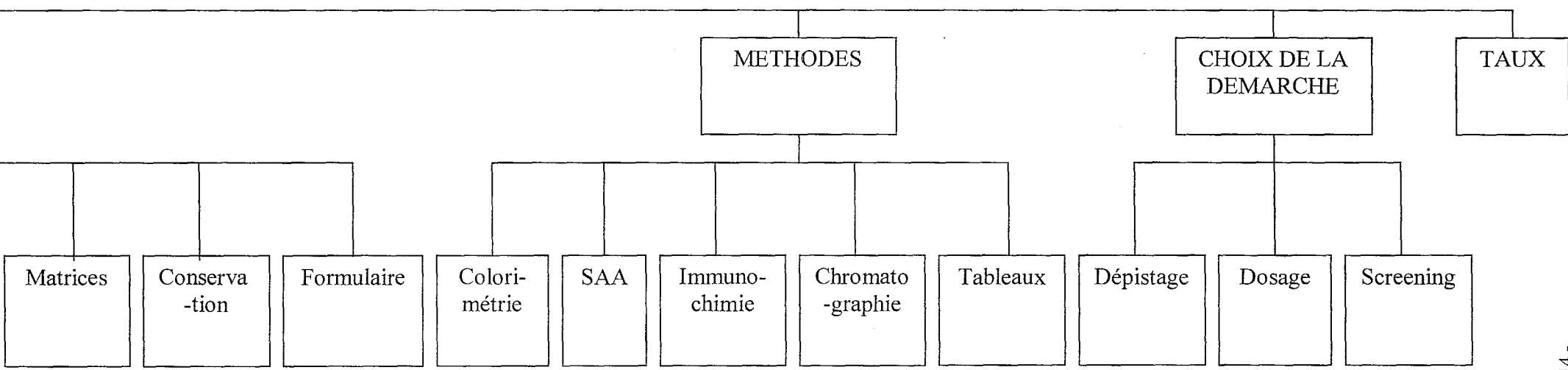
4.3.3 Organigramme : schéma

5 Résultats

A partir de la page d'accueil, nous avons développé 5 rubriques



**Organisation du module
ANALYSE TOXICOLOGIQUE**



5.1 Points essentiels

C'est une introduction sur l'analyse toxicologique, présentant le point de vue des différents intervenants :

- Le clinicien
- L'analyste

En effet, une analyse toxicologique utile et performante nécessite une bonne coopération entre le clinicien et l'analyste pour optimiser les ressources du laboratoire.

L'analyse doit être initiée et guidée par le clinicien.

5.2 Indications de l'analyse toxicologique

Cette partie est divisée en 4 :

- Intérêt diagnostique
- Intérêt pronostique
- Intérêt thérapeutique
- Intérêt médico-légal

Ces sous-parties ont été développées et reliées entre elles par des hypermots.

L'objectif de ce chapitre est de cerner les domaines d'application de l'analyse en toxicologie hospitalière.

5.3 Prélèvements

Ce chapitre traite de la nature des différents échantillons utilisés pour l'analyse toxicologique. Pour chaque échantillon, nous avons suivi le même plan, ceci dans un souci de cohérence.

- Généralités
- Conditionnement
- Avantages
- Inconvénients

L'échantillon est le début de la chaîne de l'analyse : la qualité du prélèvement va donc conditionner la qualité des résultats. Il est nécessaire de procurer des échantillons adéquats au laboratoire : leur recueil doit être rigoureux et méthodique.

Nous avons aussi intégré dans cette partie la demande d'analyse et la transmission des résultats. Ces échanges d'informations entre le clinicien et l'analyste permettent une bonne exploitation du prélèvement en vue d'un résultat adapté à la demande du clinicien.

5.4 Méthodes d'analyse

Cette partie développe en détail les principales méthodes utilisées en analyse toxicologique :

- Colorimétrie
- Spectrométrie d'absorption atomique
- Techniques de chromatographie (GC ; LC ; CCM)
- Immunochimie (FPIA ; EMIT ; RIA)

Dans ce chapitre, nous avons voulu mettre en avant le principe des méthodes analytiques utilisées en milieu hospitalier. Notre but était de faire connaître ces techniques d'une façon simple, à l'aide de schémas.

Un plan général a été suivi, mais cependant adapté à chaque méthode :

- Principe
- Mécanisme : des schémas simplifiés ont été insérés
- Appareillage
- Prélèvement
- Avantages
- Inconvénients
- Résultats
- Applications

En effet, le laboratoire dispose de nombreuses techniques pour identifier et quantifier les toxiques dans les liquides biologiques.

Il n'existe aucune méthode simple, rapide et peu coûteuse qui permet de tout détecter.

Le choix de l'analyste dépend des priorités définies par le clinicien et des contraintes techniques et économiques en matière de personnel et d'équipement.

5.5 Choix de la démarche analytique

Selon le cas clinique, le biologiste dispose de plusieurs stratégies :

- soit la détection de molécules suspectées par le clinicien, par des méthodes simples qui permettent d'avoir des résultats rapides. Le biologiste confirmera ou pas ces résultats par des méthodes plus spécifiques qui permettront de doser la molécule
- soit une recherche globale de toxiques selon l'épidémiologie locale, si l'état du patient est critique (coma). On utilise des méthodes qui permettent de détecter un large panel de substances.

Le module reprend donc ces différentes stratégies :

- Dépistage toxicologique
- Identification et dosage moléculaire
- Screening ou recherche globale

5.6 Taux thérapeutiques, taux toxiques

Un tableau regroupant les taux thérapeutiques et les taux toxiques de différents médicaments et produits industriels a été complété et inséré dans notre module.

6 Conclusion

Nous espérons que ce travail permettra au grand public de découvrir l'analyse toxicologique et aux scientifiques de parfaire leurs connaissances en la matière.

Cette thèse pourrait sans doute être complétée ultérieurement par des professionnels de la discipline, pour remettre à jour les données qui évoluent rapidement dans ce domaine.

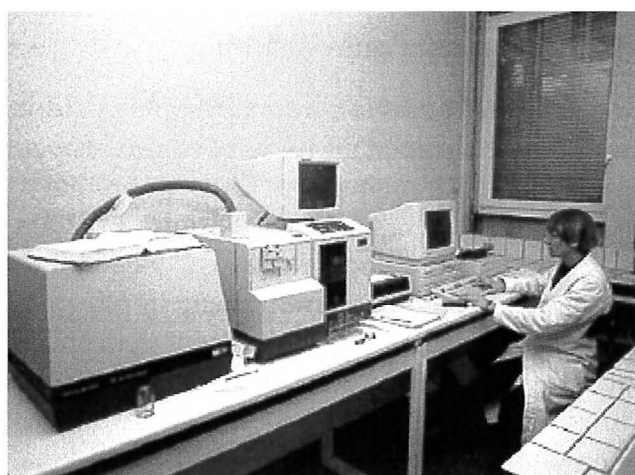
Le module « analyse toxicologique » a été réalisé en vue d'être consulté via Internet. De ce fait, la lecture sur papier, page à page, a peu d'intérêt.

Il peut donc être consulté sur Internet à l'adresse suivante :

www.egora.fr/Tox-In/PARACELS.HTM



Les analyses toxicologiques sur Paracelse



Remerciements :

- à M. Vincent DANIEL pour nous avoir suivies et encadrées tout au long de ce travail
- à Mme Françoise VINCENT pour ses précieux conseils
- à Mme ALARY et M. BENOIT-GUYOD

*Tox-In: Copyright © 1999 (France).
Mise à jour le 11-05-2001*

Les analyses toxicologiques

Un service d'urgence est quotidiennement confronté à un grand nombre d'intoxications aiguës : abus d'alcool ou de drogues, surdosages médicamenteux volontaires ou accidentels, expositions à des produits industriels ou ménagers... Et ce nombre est en constante augmentation.

De ce fait, les demandes d'analyses toxicologiques ne cessent de croître : cependant, elles sont souvent onéreuses, mal exploitées et parfois inutiles.

Une collaboration entre clinicien et analyste est indispensable, afin qu'une adaptation réciproque s'établisse entre les attentes de l'un et les possibilités de l'autre.

Points essentiels

Indications de l'analyse toxicologique : à quoi sert une analyse toxicologique ?

Prélèvements : nature de l'échantillon

Méthodes d'analyse :

- Immunochimie
- Spectrométrie d'absorption atomique
- Techniques colorimétriques
- Techniques chromatographiques

Choix de la démarche analytique

Taux thérapeutiques, taux toxiques

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Points essentiels

- L'intérêt de la recherche des toxiques en urgence est un sujet de débat
 - Au cours des intoxications aiguës, l'analyse toxicologique doit-elle être un examen de routine ou doit-elle être réservée aux situations où elle est susceptible d'apporter un bénéfice réel ?
 - La réponse n'est pas univoque et doit tenir compte des impératifs du clinicien et de l'analyste
-

Le point de vue du clinicien

- **Les questions** : en urgence, une intoxication ou une suspicion d'intoxication pose au clinicien 3 types de problèmes concernant :
 - le diagnostic :
 - s'agit-il d'une intoxication ?
 - quels sont les toxiques en cause ?
 - la symptomatologie est-elle en accord avec le(s) toxique(s) présumé(s) et est-elle en corrélation avec la dose ingérée ?
 - le pronostic : quelle est la gravité réelle ou potentielle ?
 - le traitement : une thérapeutique particulière est-elle indiquée ?
 - **Orientation de l'analyse (démarche d'identification du toxique)** :
 - Examen clinique : il débute par l'anamnèse
 - sexe, âge, profession
 - antécédents du patient
 - conditions de survenue de l'intoxication
 - nature du toxique, emballage, voie de pénétration, quantité incriminée, chronologie de l'intoxication, symptomatologie initiale
 - Examens complémentaires : ils viennent conforter un diagnostic déjà étayé
 - ECG
 - radiographie du thorax
 - Examens biologiques : ils ont une place de choix dans la démarche d'identification des toxiques
 - gazométrie du sang artériel
 - ionogramme sanguin
 - Toutes ces données permettent d'orienter et de limiter les analyses toxicologiques
-

Le point de vue de l'analyste

- **Les questions** : l'analyste se heurte à plusieurs difficultés :
 - quels toxiques faut-il rechercher ?
 - quel est le type d'analyse et de résultat dont le clinicien a besoin ?
 - quel est le milieu biologique dont l'analyse apportera au clinicien une indication pertinente ?
 - quel est le délai de réponse nécessaire pour que l'analyse présente un intérêt réel en urgence ?
 - L'orientation de l'analyse toxicologique se fait grâce à une bonne collaboration clinico-biologique
-

La collaboration clinicien-analyste

- Une analyse toxicologique utile et performante nécessite une bonne coopération entre le clinicien et l'analyste
- L'analyse toxicologique doit être initiée et guidée par le clinicien
- Le dialogue et la collaboration entre le clinicien et l'analyste sont d'importance primordiale car ils assurent une utilisation optimale des ressources du laboratoire

Accueil

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Collaboration clinico-biologique

- La collaboration entre le clinicien et l'analyste consiste en une mise en commun de compétences différentes pour améliorer la prise en charge d'une intoxication aiguë
- Ce partenariat peut se décomposer en 3 temps :
 - **La collaboration avant l'intoxication** : elle consiste
 - à étudier la fréquence des intoxications
 - à identifier les produits les plus souvent en cause
 - à définir des échelles de toxicité
 - à identifier des facteurs de risque et de gravité (terrain, voie d'administration...)
 - à mesurer l'impact de l'analyse toxicologique sur la conduite diagnostique et thérapeutique
 - **La collaboration lors d'une intoxication aiguë** :
 - les prélèvements doivent être correctement réalisés
 - la demande d'analyse claire
 - toutes les informations concernant le patient (l'anamnèse, les examens clinique, biologique...) et son état ainsi que les circonstances de l'intoxication doivent être communiquées à l'analyste
 - à partir de ces renseignements, le but du laboratoire d'analyses sera de confirmer (ou infirmer) l'hypothèse toxique et d'en évaluer la gravité
 - la collaboration clinico-biologiste comprend aussi la discussion des résultats, permettant une interprétation plus juste
 - cette collaboration permet enfin de décider soit de l'arrêt des investigations, soit d'une recherche complémentaire ou d'une surveillance de la toxicocinétique
 - **La collaboration après l'intoxication** :
 - les prélèvements qui ont été stockés peuvent être étudiés : étude de la cinétique, des relations concentrations-effets...
 - collaboration élargie à d'autres cliniciens et biologistes : échange d'informations en fonction de la compétence, de l'équipement et de l'expérience des uns et des autres

Points essentiels

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Indications de l'analyse toxicologique

Introduction

- L'intérêt de l'analyse toxicologique en urgence est très variable selon la nature du toxique et l'utilisation qu'en fera le clinicien
 - Une analyse toxicologique "tous azimuts" sans information clinique est illusoire, coûteuse et d'un intérêt pratique aléatoire
 - La demande d'analyse toxicologique doit être initiée par le clinicien, ciblée et tenir compte des impératifs économiques
 - Les screening toxicologiques doivent tenir compte de l'épidémiologie locale des intoxications
 - L'analyse toxicologique dans le cadre des urgences hospitalières est un complément de l'approche clinique
 - Les investigations toxicologiques ont quatre catégories principales d'indications, correspondant à des objectifs bien définis :
-

Intérêt diagnostique

- Le but est de confirmer ou d'infirmer une hypothèse toxique
 - C'est une orientation qualitative ou quantitative
 - C'est une étape qui fait suite à l'examen clinique
 - Les caractéristiques de cette orientation seront donc :
 - la rapidité
 - la recherche de familles moléculaires avec une faible exigence de spécificité
-

Intérêt pronostique

- On dose spécifiquement la molécule pour qu'une relation entre la dose et l'effet puisse être établie
 - C'est une orientation quantitative
-

Intérêt thérapeutique

- Le dosage du toxique ou de ses métabolites pose l'indication de mesures thérapeutiques spécifiques (antidotes), ou au contraire évite la mise en oeuvre d'un traitement lourd, hasardeux ou coûteux, alors qu'il n'est pas nécessaire
-

Intérêt médico-légal

- Une analyse toxicologique peut être justifiée en raison d'implications médico-légales
-

Synthèse

Accueil

Tox-In: Copyright © 1999 (France).
Mise à jour le 11-05-2001

Indications de l'analyse toxicologique: Intérêt diagnostique

Les circonstances de découverte d'un patient présumé intoxiqué constituent la première étape du diagnostic.

Confirmer une intoxication :

- **L'intoxication est certaine, le ou les toxiques sont connus, la symptomatologie est concordante** avec le ou les produits incriminés :
 - L'anamnèse, l'interrogatoire du patient, des témoins, de sa famille, l'examen clinique, l'évolution des premières heures, les examens biologiques de base, sont souvent suffisants pour accepter le diagnostic d'intoxication et prendre les premières mesures thérapeutiques
 - Certains éléments cliniques et biologiques sont très évocateurs de telle ou telle intoxication :

Antirouilles	Hypocalcémie intense
Aspirine	Alcalose respiratoire, acidose métabolique, déshydratation
Chloroquine	Hypokaliémie, acidose lactique, insuffisance rénale
Colchicine	Hémoconcentration, acidose, TP effondré, CIVD
Cyanures	Acidose métabolique, hyperlactatémie
Digitaliques	Hyperkaliémie
Ethylène glycol	Acidose métabolique non lactique, non cétonémique, hyperosmolarité, trou anionique élevé, hypocalcémie
Méthanol	Acidose métabolique non lactique, non cétonémique, hyperosmolarité, trou anionique élevé
Paracétamol	Cytolyse hépatique, diminution du TP
Paraquat	Insuffisance rénale aigüe organique et cytolysé hépatique puis hypoxie réfractaire
Pesticides organophosphorés	Chute des cholinestérases plasmatiques
Xanthines et bêta-mimétiques	Hypokaliémie, hyperleucocytose, hyperglycémie et acidose lactique

D'après "P. TABOULET, Ph. AZOYAN. Place des examens complémentaires dans la démarche thérapeutique de l'urgence toxicologique. Réan. Soins intens. MED. URG., 1994, 10, n°1, 12-17. "

- **L'intoxication est certaine, le ou les toxiques sont connus, la symptomatologie est discordante** soit avec les produits incriminés, soit avec la dose présumée :
 - L'analyse toxicologique, orientée par les informations cliniques, recherchera l'éventuelle présence de toxiques associés
 - Une collaboration entre le clinicien et l'analyste doit s'instaurer pour envisager d'autres hypothèses toxiques : le clinicien doit informer le biologiste des anomalies biologiques ou cliniques observées afin d'orienter la recherche

- **Le contexte et la symptomatologie évoquent une étiologie toxique mais les produits en cause ne sont pas connus** : l'analyse toxicologique consistera en une recherche globale (screening), orientée par le clinicien

Exclure une hypothèse toxique ou poser un diagnostic différentiel d'intoxication :

- De nombreux états cliniques peuvent simuler une intoxication aigüe.
Ex : Une personne âgée qui fait un coma (AVC ou intoxication au CO ?)
Ex : Des convulsions chez un enfant (cause toxique ou pathologique ?)
Ex : Un patient présentant une altération inexplicée de la conscience ou autres tableaux cliniques dont l'étiologie est peu claire (arythmie, convulsions...)
Dans ces cas là, l'analyse toxicologique revêt un intérêt particulier
- La notion de diagnostic différentiel doit toujours être présente à l'esprit du clinicien et du biologiste
- Guidé par les symptômes cliniques et biologiques, le biologiste peut orienter sa recherche vers l'élimination de telle ou telle molécule
- En l'absence de contexte d'intoxication, il est impossible d'être exhaustif dans une démarche analytique, la liste des produits toxiques étant illimitée : un screening plus ou moins large peut être envisagé

Indications Intérêt pronostique Intérêt thérapeutique Intérêt médico-légal

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Indications de l'analyse toxicologique: Intérêt pronostique

Détermination du pronostic, évaluation de la gravité d'une intoxication :

- Ces démarches se basent avant tout sur des critères cliniques, aisés à obtenir
- De nombreux marqueurs paracliniques simples permettent d'évaluer la gravité d'une intoxication :
 - Ex : Hyperkaliémie des digitaliques
 - Ex : Acidose métabolique des alcools et glycols
 - Ex : Elargissement du complexe QRS avec les médicaments à effet stabilisant de membrane
- Le dosage du toxique ou de ses métabolites est en revanche utile s'il n'existe pas de bons marqueurs cliniques ou paracliniques de gravité ou que la toxicité est différée (toxiques lésionnels)
- Selon les toxiques, l'intérêt de l'analyse toxicologique dans l'évaluation de la gravité et du pronostic est très variable :
 - Les toxiques fonctionnels
 - Les toxiques lésionnels
- Globalement l'existence d'une corrélation entre concentrations sanguines et effets toxiques n'est pas une généralité
- La connaissance de la toxicocinétique du produit a alors une grande importance pour permettre une interprétation juste des taux sanguins
- Là encore, la collaboration biologiste/clinicien est indispensable

Indications Intérêt diagnostique Intérêt thérapeutique Intérêt médico-légal

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Les toxiques fonctionnels

- Ces toxiques modifient ou entravent transitoirement une fonction de l'organisme ou d'un organe
- La sévérité de la symptomatologie et son évolution sont directement dépendantes et proportionnelles à la concentration momentanée du toxique au niveau de l'organe cible
- La plupart des médicaments (psychotropes, cardiotropes, lithium, théophylline...) sont des toxiques fonctionnels
- Il existe une "assez bonne corrélation" entre les concentrations plasmatiques ou sanguines et la sévérité des symptômes (mais ces corrélations dépendent du terrain, de l'âge, de la tolérance...)
- Ex : pour la quinidine, on observe une augmentation de l'espace QT pour des concentrations supérieures à 2 µg/ml, des symptômes neurosensoriels pour des concentrations supérieures à 8 µg/ml, et une cardiotoxicité pour des concentrations supérieures à 14 µg/ml

Intérêt pronostique Mécanisme de toxicité

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Les toxiques lésionnels

- Ces toxiques provoquent des lésions des organes ou des cellules
- La toxicité dépend de la concentration maximale qui aura été atteinte au niveau de l'organe cible
- Ce sont par exemple : le paracétamol, le paraquat, les métaux lourds, la colchicine...
- L'évolution des symptômes n'est pas proportionnelle à celle des concentrations plasmatiques, la symptomatologie pouvant persister malgré la disparition du toxique de l'organisme
- L'interprétation des concentrations plasmatiques doit tenir compte du délai suivant l'ingestion
- Ex : les concentrations de paraquat permettent, en fonction du délai séparant l'ingestion du prélèvement, de définir le pronostic
- Ex : les concentrations de paracétamol sont un bon indice du risque de cytolysé hépatique

Intérêt pronostique Mécanisme de toxicité

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Indications de l'analyse toxicologique: Intérêt thérapeutique

Indications thérapeutiques:

- Le traitement immédiat d'une intoxication ne dépend pas de l'analyse toxicologique mais des données cliniques, biologiques et anamnestiques
- Le traitement symptomatique est réalisé en fonction des perturbations des fonctions vitales et des anomalies biologiques
- Dans la grande majorité des cas, les traitements épurateurs (lavage gastrique, charbon activé) ou antidotiques peuvent être réalisés avant d'avoir le résultat d'une analyse :

TOXIQUES	TRAITEMENTS
Antivitamine K	Vitamine K1
Bêtabloquants	Glucagon et catécholamines
Benzodiazépines	Flumazénil (ANEXATE)
Carbamates	Remplissage +/- dobutamine
Chloroquine	Adrénaline + diazépam + ventilation
Cyanure	Oxygène + hydroxocobalamine
Digitaliques	Atropine + Fab
Ethylène glycol	4-méthylpyrazole (ou éthanol)
Héroïne	Naloxone (NARCAN)
Hyperthermie maligne	Dantrolène (DANTRIUM)
Hypoglycémiant	Glucose
Isoniazide	Vitamine B6
Métaux lourds	Chélateurs
Méthanol	Ethanol (ou 4-méthylpyrazole)
Méthémoglobinisants	Bleu de méthylène
Monoxyde de carbone	Oxygène
Organophosphorés	Atropine
Paracétamol	N-acétylcystéine
Tricycliques	Bicarbonates

D'après "P. TABOULET, Ph. AZOYAN : Place des examens complémentaires dans la démarche thérapeutique de l'urgence toxicologique.

Réan. Soins intens. MED. URG., 1994, 10, n°1, 12-17. "

Surveillance et évaluation du traitement (toxicocinétique) :

- L'analyse toxicologique est indispensable pour guider la thérapeutique ultérieure
- L'efficacité des mesures thérapeutiques destinées à modifier la cinétique d'un toxique ou de ses métabolites doit être évaluée afin que le traitement puisse être adapté à la physiologie du patient et à sa réponse à l'agression toxique
- Des analyses spécifiques, quantitatives et souvent répétées, sont nécessaires pour décider de

l'interruption, de la poursuite ou de la répétition d'un traitement épurateur

- Les résultats de l'analyse toxicologique ont une influence directe sur la conduite thérapeutique dans quelques cas : paracétamol et N-acétylcystéine, discussion d'une épuration extrarénale dans l'intoxication par lithium, méthanol ou éthylène-glycol

Indications Intérêt diagnostique Intérêt pronostique Intérêt médico-légal

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Indications de l'analyse toxicologique:

Intérêt médico-légal

Intérêt médico-légal :

- Des analyses toxicologiques peuvent être indiquées en raison des implications médico-légales éventuelles que peuvent poser certaines intoxications criminelles, mortelles, ou professionnelles :
 - les intoxications survenant sur le lieu de travail
 - les intoxications par le monoxyde de carbone: responsabilité éventuelle du propriétaire de l'appartement ou de l'installateur d'un appareil de chauffage
 - les intoxications avec agression ou accident, que l'intoxiqué en soit la cause ou la victime
- L'analyse toxicologique devra être très spécifique et si possible quantitative
- L'analyse toxicologique doit être réalisée au cas par cas, en fonction d'un contexte clinique et environnemental (soumission chimique)

Intérêt scientifique :

- Jamais primordial en urgence
- Une analyse toxicologique bien conduite avec étude de la cinétique peut contribuer à une meilleure connaissance de la toxicité et de l'efficacité des traitements

Indications Intérêt diagnostique Intérêt pronostique Intérêt thérapeutique

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Indications de l'analyse toxicologique : Synthèse

- L'analyse toxicologique ne supprime jamais l'expérience clinique dans le diagnostic et l'évaluation des intoxications aiguës
- En revanche, l'analyse toxicologique est essentielle lorsqu'il s'agit d'apprécier la toxicocinétique d'une substance et d'évaluer l'effet d'un traitement qui tente de la modifier
- Indications de l'analyse toxicologique pour les toxiques les plus fréquents ou présentant un risque particulier en fonction de l'intérêt diagnostique, pronostique et thérapeutique :

	Diagnostic	Pronostic	Traitement
Antidépresseurs tricycliques	++	+	
Barbituriques	++	+	+
Benzodiazépines	+		+
Bêta-bloquants	+		
Chloroquine	++		
Cocaïne	+		
Colchicine	++	+	+
Digoxine	++	+	+
Ethanol	+		
Ethylène glycol	++	+	+
Lithium	++	+	+
Méprobamate	++	+	+
Métaux	++	+	+
Méthanol	++	+	+
Monoxyde de carbone	++	+	+
Opiacés	+		+
Paracétamol	++	+	+
Paraquat	++	+	+
Phénothiazines	+		
Salicylés	++	+	+
Théophylline	++	+	+

D'après "A. JAEGER, Ph. SAUDER, J. KOPFERSCHMITT . L'analyse toxicologique en urgence : indications, interprétation. In : Actualité en Réa et Urgences. Arnette, 1994 : 481-497."

Indications

*Tox-In: Copyright © 1999 (France).
Mise à jour le 02-01-1998*

Le prélèvement

Notions générales

Les différents types de prélèvements

- Sang
- Urine
- Liquide gastrique
- Les matrices alternatives, rôle incontournable dans le cadre médico-légal :
 - Cheveux
 - Autres : salive, sueur

La conservation

L'échange des informations cliniques et des résultats analytiques

Pour assurer une rentabilité optimale des investigations analytiques, la communication entre le clinicien et l'analyste est essentielle :

- échange du formulaire de demande
- échange du protocole de réponse
- communication directe entre ces partenaires : le dialogue permet une conclusion juste intégrant les paramètres cliniques et analytiques

Accueil

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Notions générales : le prélèvement

- L'échantillon est le premier maillon de la chaîne de l'analyse : la qualité du prélèvement va donc conditionner la qualité des résultats
- Collecte suffisante d'échantillons à l'admission afin que des analyses rétrospectives restent possibles (si l'évolution clinique le rend nécessaire)
- Nécessité de procurer des échantillons adéquats au laboratoire : leur recueil doit être rigoureux et méthodique
- Attention à la contamination du prélèvement par les solutions désinfectantes utilisées (alcool, produits iodés ou contenant du mercure)
Rq : contamination inévitable par le gel de lidocaïne utilisé pour le sondage vésical
- Pour optimiser les échantillons biologiques, il faut considérer :
 - La nature des échantillons à prélever
 - Leur délai d'acheminement au laboratoire
 - Leur modalité de conservation
 - Les informations indispensables avec la demande

Le prélèvement

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Le sang

Généralités

- Le sang est le liquide biologique le plus important pour le toxicologue, en vue d'une interprétation des résultats analytiques.
La concentration sanguine des toxiques est le plus souvent corrélée :
 - soit à un facteur de gravité
 - soit à un facteur pronostique
- Il est :
 - toujours présent
 - facile à prélever en milieu hospitalier
- L'analyse sera effectuée sur du sang veineux

Conditionnement

- Dans un flaconnage de préférence en verre et en présence d'un anticoagulant.
Cas particuliers :
 - dosage du lithium ou de certains métaux : l'utilisation de l'EDTA comme anticoagulant peut être gênante
 - dosage de la cocaïne et des cyanures : il est plus rigoureux lorsque le sang est recueilli sur fluorures :
 - ils évitent l'hydrolyse rapide de la cocaïne
 - ils évitent la formation de cyanures d'origine bactérienne in vitro
- Volume minimum à prélever = échantillon de 10 ml, permettant d'effectuer un screening toxicologique incluant :
 - la plupart des psychotropes et des stupéfiants
 - les substances volatiles
 - l'alcool
 - les cyanures
 - le monoxyde de carbone
- En médecine légale : le prélèvement doit toujours se faire en double pour une éventuelle contre expertise

Avantages

- Obtention de résultats:
 - qualitatifs (screening toxicologique)
 - quantitatifs : les chiffres de concentrations dites thérapeutiques ou toxiques ne sont disponibles que pour le sang.
Attention: il existe une grande variabilité interindividuelle (par exemple, pour les psychotropes) .
Il ne faut jamais considérer un taux comme thérapeutique ou toxique sans introduire les notions :
 - de terrain
 - d'usage chronique
 - ou d'association de divers xénobiotiques
 - Les résultats quantitatifs permettront une évaluation du niveau d'imprégnation d'un

sujet pour un analyte donné

- Le plasma est le plus souvent utilisé
 - Remarque : pour certains xénobiotiques à répartition intracellulaire, on préfère le sang total :
 - les antipaludéens, à fixation intra-érythrocytaire
 - la ciclosporine
 - le lithium
-

Inconvénients

- La stabilité des xénobiotiques dans le sang est un problème majeur pour l'analyste :
 - dégradation in vitro
 - adsorption de l'analyte sur les parois du tube est parfois observéeexemples:
 - cas des principes actifs du cannabis qui s'adsorbent sur les parois
 - la cocaïne est peu stable dans le temps
 - les benzodiazépines se dégradent rapidement
 - La conservation doit être obligatoire au froid, après centrifugation pour séparer la phase plasmatique
 - Délai d'acheminement au laboratoire doit être le plus court possible
-

Le prélèvement

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

L'urine

Généralités

- Elle est disponible en quantité abondante : elle permet d'effectuer des recherches sur un grand nombre de substances
- Seul le dosage du monoxyde de carbone n'est pas accessible à l'urine
- Absence de protéines ou de lipides en quantité importante (composition en eau supérieure à 98 %) : c'est donc le milieu de choix pour une recherche qualitative
- Le recueil des urines devrait s'effectuer :
 - le plus rapidement possible après l'admission en milieu hospitalier, avant l'administration de substances actives
 - sans antiseptique ni conservateur

Conditionnement

- Prélèvement sur flacon ou tube sec (en pratique, utilisation de flacon de type ECBU)
- Risque de falsification du prélèvement par les toxicomanes (surveillance par le personnel soignant) :
 - dilution de l'échantillon d'urine par de l'eau
 - ajout de substance capable de perturber le dépistage (eau de javel, détergents...)
- En médecine légale : le prélèvement doit toujours se faire en double pour une éventuelle contre-expertise (conservation du deuxième flacon à -20 °C, le premier flacon à 4°C)
- Volume de l'échantillon : 50 ml

Avantages

- L'urine ouvre une fenêtre rétrospective plus ou moins large sur le passé toxicologique de l'individu du fait du long délai de présence du toxique dans ce milieu :
 - 2 à 3 jours pour la plupart des médicaments et stupéfiants
 - 1 semaine ou plus pour les produits à demi-vie longue et de caractère lipophile
Ex : cannabis, certains raticides anticoagulants
- Pour les stupéfiants :
 - l'urine est le milieu de choix car les concentrations sanguines sont très faibles.
Ex : la cocaïne est très rapidement métabolisée
 - les dosages urinaires sont utiles dans le suivi du sevrage de certaines toxicomanies (ex : cannabis) pour différencier la présence du toxique liée à l'élimination longue de la rechute
 - Les kits immunochimiques ont été développés et validés pour l'urine

Inconvénients

- Sans grand intérêt sur le plan quantitatif. Les concentrations mesurées dépendent de nombreux facteurs :
 - délai entre la dernière exposition et le prélèvement
 - diurèse
 - mise en place d'un traitement épurateur

- les résultats quantitatifs doivent être mis en relation avec la créatininurie pour être interprétables

Le prélèvement

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Le liquide gastrique

Généralités

- Il est utile lorsque l'histoire clinique suggère une ingestion récente, car il peut contenir de grandes quantités de toxique non métabolisé
 - C'est une analyse effectuée exceptionnellement.
Ex : dans les situations où le toxique a déjà été identifié dans un autre milieu et dont le clinicien voudrait connaître les paramètres d'épuration
 - L'analyse du liquide gastrique peut être simplement visuelle ou olfactive :
 - un aspect bleuté est évocateur d'une intoxication par antigel
 - odeur évocatrice :
 - alcool
 - odeur d'ail pour l'arsenic et le phosphore jaune
 - odeur de poire pour le paraldéhyde et le chloral
 - odeur d'amande amère pour les cyanures
-

Conditionnement

- Volume du prélèvement : 50 ml
-

Avantages

- Important d'obtenir le premier échantillon de lavage : lors d'un surdosage massif, il est parfois possible de reconnaître des comprimés ou des morceaux non dégradés, qui vont faciliter l'identification des principes actifs
 - Permet de juger de l'efficacité d'un lavage gastrique
 - Peut objectiver la voie d'administration du toxique
-

Inconvénients

- Ne constitue pas un indice de gravité
 - L'interprétation d'une concentration dans le liquide gastrique est très aléatoire
-

Le prélèvement

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Les cheveux

Généralités

- Utilisation pour le dépistage des conduites toxicophiles
- Ce sont les marqueurs des expositions répétées ou chroniques
- Lors de la pousse, les cheveux incorporent dans leur matrice protéique les xénobiotiques présents dans le sang, la sueur et le sebum.. Une fois fixés, ces composés restent stables
- Quantité nécessaire : mèche de 60 cheveux (taille d'un crayon) prélevée en vertex postérieur, au plus près de la peau et coupée aux ciseaux (ne pas arracher les cheveux) .
Orientation racine-extrémité par une cordelette
- Avant l'analyse, ils sont décontaminés par du dichlorométhane, puis broyés et hydrolysés en présence de standards internes
- Les xénobiotiques sont ensuite extraits et analysés en CG/SM ou CL/SM

Conditionnement

- La conservation se fait dans un tube sec, à température ambiante

Avantages

- Permettent d'établir le profil de consommation à long terme et son évolution : chaque segment de 1.0 cm représente sensiblement la mémoire mensuelle de l'exposition :
 - pointe des cheveux : consommation la plus ancienne dans le temps
 - vers la racine des cheveux : consommation la plus récente
- Le prélèvement est non invasif
- La durée de conservation est pratiquement illimitée
- Jouent le rôle de calendrier historique de la consommation dans les situations où l'interrogatoire s'avère difficile voire impossible : cas de certains malades de psychiatrie
- Pas de risque de falsification
- Possibilité d'obtention d'un deuxième échantillon identique

Inconvénients

- Analyse coûteuse (GC/MS ; LC/MS)
- Pas d'intérêt en cas d'intoxication aiguë
- Relève du domaine scientifique et médico-légal
- Ne peut se faire en urgence : dosage différé

Le prélèvement

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Sueur, salive

Généralités

- La sueur, la salive sont des milieux complémentaires d'investigation dans les procédures de dépistage des conduites toxicophiles
 - Dans la salive, mise en évidence des produits parents :
 - stupéfiants : opiacés, cocaïne, amphétamines, cannabis
 - psychotropes, cardiotropes, antibiotiques
 - alcool éthylique
 - Dans la sueur : mise en évidence de stupéfiants
-

Avantages

- Absence de caractère invasif, faciles à prélever :
 - la sueur est collectée à l'aide d'un patch, sur plusieurs jours. Elle se fixe sur une membrane absorbante, se concentre lentement et les xénobiotiques présents seront retenus
 - la salive peut être prélevée sous contrôle visuel du personnel médical, ce qui réduit considérablement les risques de substitution par le sujet dans le cas de recherches de stupéfiants
 - Le prélèvement de salive permet pour certains composés de connaître en temps réel l'importance de l'imprégnation du fait d'une corrélation étroite entre les concentrations sanguine et salivaire
-

Inconvénients

- Incompatibles avec une utilisation en urgence
 - Interprétation difficile : il n'existe pas encore de réactifs d'immunochimie commercialisés et validés pour ces milieux biologiques
-

Le prélèvement

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

La conservation

- Elle est différente suivant la nature des échantillons
 - Les prélèvements conservés à long terme (plus de 24 heures) et destinés à une analyse en série, à des fins scientifiques ou médico-légales, doivent être congelés (urines, plasma ou sérum).
Rq : le sang total ne peut pas être congelé. Il doit être préalablement centrifugé pour isoler le sérum ou le plasma
 - Si l'analyse est différée (décidée en fonction de l'évolution clinique) : conservation dans des tubes en polypropylène glycol (pour une éventuelle analyse SM), dans un réfrigérateur ordinaire entre 0 et 4 °C
- Les tubes doivent être hermétiquement fermés pour prévenir :
 - la contamination par les microorganismes
 - l'évaporation des substances volatiles (exemple : échantillons urinaires destinés à l'analyse de l'éthanol). Dans ce cas, le flacon sera rempli au maximum, et parviendra au laboratoire dans de la glace
- Aucun conservateur ne doit être ajouté
- Cas du LSD : il faut protéger les échantillons urinaires de la lumière pour éviter toute dégradation
- Les échantillons à analyser en urgence doivent être acheminés au laboratoire de toxicologie par le moyen le plus fiable et le plus rapide

Le prélèvement

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

La demande d'analyse

- Les échantillons à analyser doivent toujours être accompagnés d'un formulaire destiné au laboratoire
- Il comporte toutes les informations pertinentes

Informations cliniques de base à fournir au laboratoire
• Produits suspectés • Voie et moment de l'exposition • Source des échantillons : ◦ sang artériel ou veineux ◦ urines fraîches ou obtenues par sondage • Moment de prélèvement de l'échantillon • Etat clinique du patient • Questions posées au laboratoire • Localisation du patient (au moment du prélèvement et dans les heures qui suivent) et médecin qui en a la charge • Traitements reçus avant le prélèvement, traitement chronique et habitudes toxicomaniaques

- Les demandes inhabituelles doivent être discutées directement par le clinicien et l'analyste
-

L'étiquetage des prélèvements

- Doit permettre l'identification indubitable du patient
- Comporte le moment du prélèvement (date, heure) surtout si les analyses sont répétées

Le prélèvement

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

La transmission des résultats

Pour répondre aux attentes du clinicien :

- le laboratoire doit transmettre rapidement les résultats significatifs, même s'ils sont encore sous réserve de confirmation et surtout s'ils sont susceptibles de modifier le traitement instauré
- les résultats doivent être présentés sous une forme aisément interprétable :
 - comparaison par rapport à une concentration thérapeutique
 - interférences possibles
- les unités utilisées doivent être clairement indiquées
- la transmission écrite par télécopie ou par voie télématique est préférable à la transmission téléphonique, source fréquente d'erreurs de retranscription

Le prélèvement

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Les méthodes d'analyse en toxicologie

Généralités

- Pour identifier et quantifier les toxiques dans les liquides biologiques, le laboratoire dispose de nombreux moyens analytiques
 - Le clinicien doit en avoir une connaissance au moins rudimentaire pour comprendre leurs limites et les délais nécessaires à leur réalisation
 - Il n'existe aucune méthode simple, rapide et peu coûteuse qui permette de tout détecter
 - Le choix de l'analyste dépend des priorités définies par le clinicien et des contraintes techniques et économiques en matières de personnel et d'équipement
 - La démarche analytique consiste à utiliser des techniques qualitatives, souvent peu spécifiques, mais qui fournissent des résultats présomptifs rapides. Ils seront secondairement confirmés par des méthodes plus sophistiquées et plus précises
-

Les différentes techniques analytiques

- Les techniques colorimétriques
 - La spectrométrie d'absorption atomique (SAA)
 - L'immunochimie
 - Les techniques chromatographiques :
 - Chromatographie en couche mince (CCM)
 - Chromatographie en phase gazeuse (CPG)
 - Chromatographie liquide haute performance (CLHP)
-

Comparaison des méthodes analytiques les plus fréquentes

Principales analyses toxicologiques : quelles méthodes pour quel toxique

Accueil

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Les techniques colorimétriques

Principe

- Les réactions colorées consistent à induire un changement de couleur de l'échantillon par addition d'un ou de plusieurs réactifs
 - Ces réactions peuvent mettre en évidence :
 - un composé, spécifiquement (picrate de sodium pour les cyanures)
 - une classe pharmacologique (réactif de Forrest pour les phénothiazines)
 - un ensemble de produits (réactif de Dragendorff pour les alcaloïdes)
-

Appareillage

- Nécessité de :
 - tubes à essai
 - réactifs
 - échantillon
-

Prélèvements

- Les réactions colorées nécessitent généralement un grand volume d'échantillon
 - Sont applicables principalement aux urines (et éventuellement au liquide gastrique)
-

Avantages

- Pré-étape d'orientation
 - Constitue la première recherche qualitative
 - Techniques simples, peu coûteuses, rapides
-

Inconvénients

- Manque de spécificité
 - Sensibilité variable
 - Risque d'interférences (notamment phénothiazines et tricycliques)
 - Nécessité parfois d'extraction
-

Résultats

- Qualitatifs
- Cependant la plupart des réactions peuvent être semi-quantitatives : il suffit de préparer une

gamme d'étalonnage et de mesurer en spectroscopie visible (colorimètre) ou UV l'absorbance du produit (on mesurera la somme des concentrations de la substance-mère et de ses métabolites)

Applications

- Méthodes anciennes, mais parfois encore d'actualité
- Réactions les plus utilisées en toxicologie hospitalière :

	Echantillon	Réactif	Coloration	Détection
Dérivés polychlorés (ac trichloroacétique)	Urine	Fujiwara	Rose	5 mg/l
Méprobamate	Sang, urine	Ludwig-Hoffman	Rouge	5-10 mg/l*
Paraquat, Diquat	Urine	Dithionite	Bleu, vert	2-5 mg/l
Phénothiazines	Urine	Forrest	Rose fugace	2 mg/l
Salicylés	Sang, urine	Trinder	Violette	50 mg/l

D'après "F. BAUD, Réanimation des intoxications aiguës"

* nécessité d'extraire du milieu biologique par un solvant organique

- Selon les moyens du laboratoire, de plus en plus remplacées par des méthodes plus sensibles et plus spécifiques

Méthodes d'analyse

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

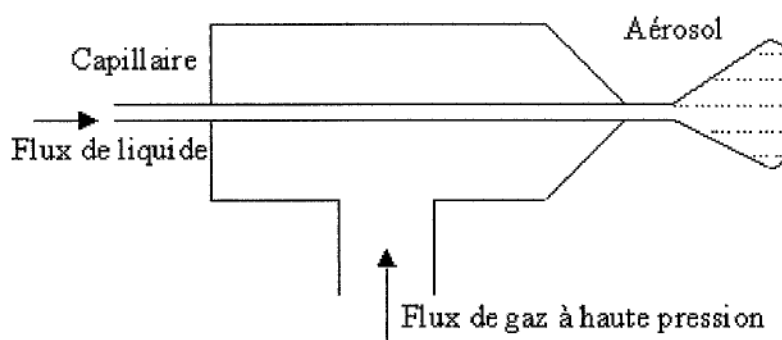
Mise à jour le 11-05-2001

La spectrométrie d'absorption atomique : SAA

Principe

- Il faut amener l'échantillon sous forme de nuage d'atomes libres : on utilise pour cela une flamme à très haute température ou un four (atomisation par voie électrothermique)
- Exemple d'un atomiseur de flamme : il est constitué d'un nébulisateur qui transforme l'échantillon liquide en un brouillard ou aérosol

NEBULISEUR EN SPECTROMETRIE
D'ABSORPTION ATOMIQUE



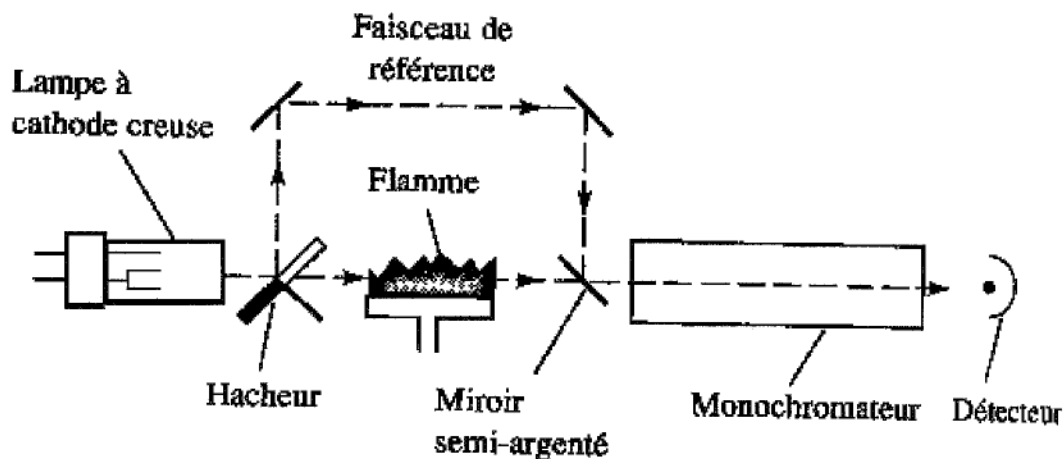
D'après "Skoog, West, Holler. Chimie analytique. 7ème édition, 1997 : 613."

- Irradiation de l'échantillon avec des photons de longueur d'onde caractéristique de l'élément à doser
- On utilisera pour le dosage :
 - soit la mesure de l'émission des raies caractéristiques de l'atome (photométrie de flamme)
 - soit la mesure de l'absorbance des raies envoyées sur les atomes (absorption atomique)
- Quantification par la technique des ajouts

Appareillage

- Source (lampe à cathode creuse) : doit émettre la raie de résonance du métal que l'on veut doser (une lampe par métal)
- Compartiment échantillon représenté par :
 - brûleur avec flamme
 - four
- Monochromateur qui isole la raie de résonance à partir de la source
- Détecteur : photomultiplicateur d'électrons

- Dispositif pour traduire le message en concentration
- Exemple d'un appareil d'absorption atomique à flamme :



D'après "Skoog, West, Holler : Chimie analytique. 7ème édition, 1997 : 620."

Prélèvements

- Plasma, serum, urine
- Conditions de prélèvement du sang : tube sec ou avec anticoagulant sauf l'héparinate de lithium (pour le dosage du lithium)

Avantages

- Méthode sensible et spécifique
- Faible consommation de l'échantillon (surtout pour le four)

Inconvénients

- La SAA n'est pas disponible dans tous les laboratoires hospitaliers
- Limitée aux dosages des métaux lourds en toxicologie

Résultats

- Méthode quantitative

Applications

- Utilisée pour le dosage des métaux dans les milieux biologiques :
 - dosage du lithium plasmatique ou erythrocytaire
 - dosage de l'arsenic, du plomb, du cadmium
 - dosage du mercure : utilisation d'un dispositif sans flamme

Méthodes d'analyse

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Immunochimie

Mots clés en immunochimie

Notions générales

- Principe de la réaction immunochimique
- Mécanisme

Les différentes méthodes immunochimiques

- Méthodes en phase hétérogène (séparation des complexes Antigènes-Anticorps (Ag-Ac) avant la détection du signal)
 - RIA, Radioimmunoassay : méthodes radio-isotopiques
 - ELISA (enzyme linked immunosorbent assay)
 - Difficilement automatisables
 - **Ne sont pas utilisées en analyse toxicologique de routine**
- Méthodes en phase homogène (pas de séparation des complexes Ag-Ac) :
 - EMIT (enzyme multiplied immunoassay technique)
 - FPIA (fluorescence polarization immunoassay)

Méthodes d'analyse

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Mots clés en immunochimie

Anticorps (Ac)	Constituant doté d'une reconnaissance parfaite pour l'antigène et susceptible, par sa liaison à celui-ci, d'inhiber son activité
Antigène (Ag)	Peut se définir comme une substance étrangère à l'organisme, capable d'induire la synthèse d'un anticorps
Faux négatif	Résultat faussement négatif. Le toxique est présent mais non reconnu par l'Ac
Faux positif	Résultat faussement positif, du à la reconnaissance par l'Ac d'un Ag ayant une parenté structurale avec l'Ag recherché
Immunodosage	Technique analytique basée sur la réaction entre un Ac et un Ag complémentaire, pour mesurer le taux d'Ag (= substance à rechercher) dans un mélange de réaction
Lumière polarisée	Qui vibre dans un seul plan
Sensibilité	Définit un seuil de détection (c'est à dire la plus petite quantité de substance pouvant être décelée dans un échantillon biologique mais non quantifiée comme une valeur exacte) et un seuil de quantification (c'est à dire la plus petite quantité de la substance pouvant être dosée dans un échantillon biologique avec une précision et une exactitude suffisante)
Spécificité	Evalue les interférences possibles. Elles peuvent provenir des substances endogènes existant naturellement dans les milieux traités, des métabolites du composé à doser, des produits qui peuvent être associés à la substance à doser (cas des polythérapies médicamenteuses ou des toxicomanies)
Traceur	Molécule qui entre en compétition au niveau de l'Ac avec la molécule à doser. Le traceur est marqué à la fluorescéine en FPIA. Il est ajouté en quantité connue

Immunochimie

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

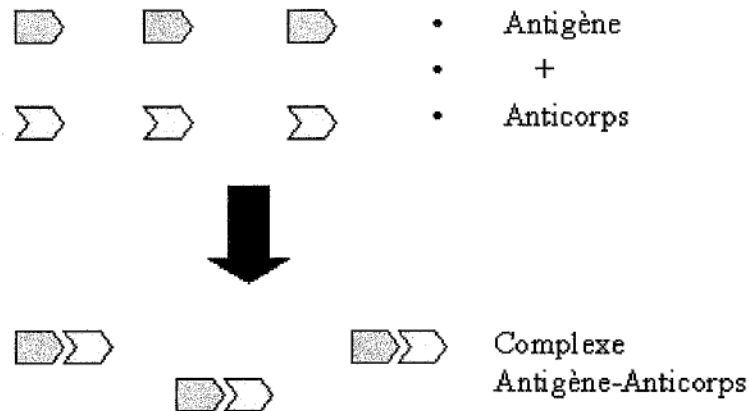
Mise à jour le 11-05-2001

Notions générales : l'immunochimie

Principe de l'immunochimie

- Le constituant à identifier et à doser joue le rôle de l'antigène (Ag)
- La méthode consiste à ajouter un anticorps (Ac) dédié à la reconnaissance de cet Ag

LA REACTION IMMUNOCHIMIQUE



- Toutes les techniques immunochimiques utilisent :
 - un Ac spécifique de la molécule à doser
 - une forme marquée de la molécule à doser

Mécanisme

- Compétition pour la fixation sur l'anticorps entre :
 - la molécule à doser présente dans l'échantillon (Ag)
 - une autre molécule marquée par un radio-isotope, une enzyme ou un fluorophore, qui lui confère une affinité légèrement inférieure à celle de l'antigène non marqué pour l'Ac
- La proportion de molécules marquées fixées sur l'Ac est inversement proportionnelle au nombre de molécules non marquées initialement présentes dans l'échantillon à doser

Immunochimie

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

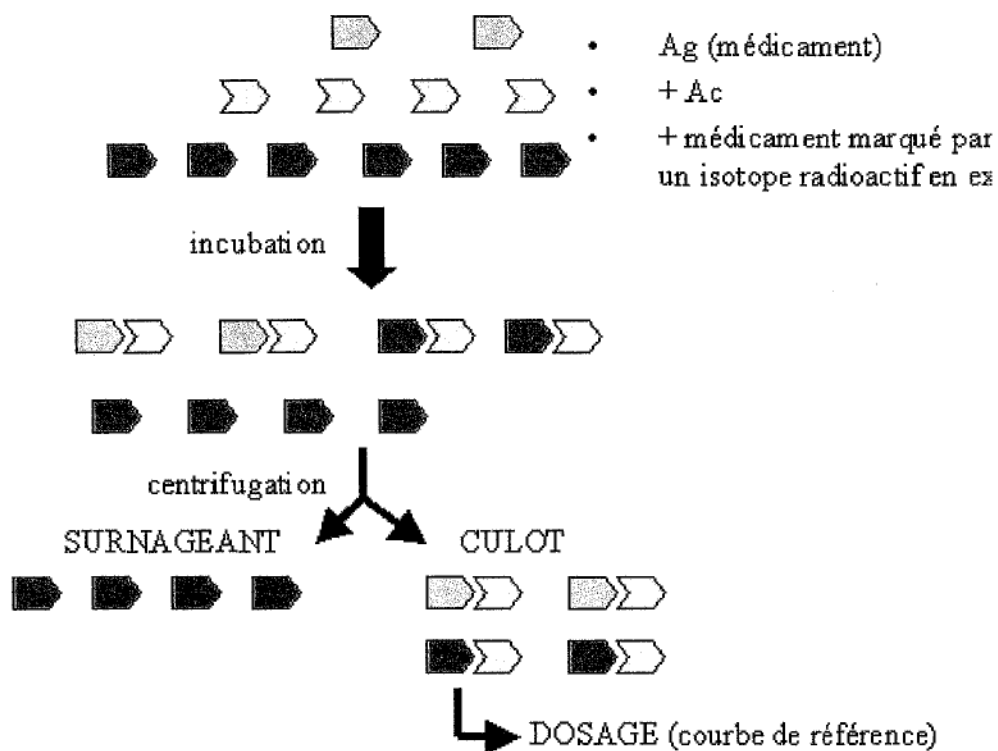
Mise à jour le 11-05-2001

Immunodosage en phase hétérogène : RIA et ELISA

Généralités

- Il n'y a pas de différence entre :
 - les signaux produits par les formes libres (Ag marqué seul)
 - les signaux produits par les formes liées (Ac lié à l'Ag marqué)Une étape de séparation des 2 formes est donc nécessaire avant toute mesure : ce sont des immunodosages en phase hétérogène
- C'est le cas des méthodes immunochimiques de radio-immunodosages (RIA) et de la technique ELISA :
 - Les radio-immunodosages (RIA) sont réservés aux laboratoires qui détiennent et manipulent les sources radioactives.Ils sont adaptés aux dosages de :
 - Acide lysergique (LSD)
 - Buprénorphine
 - Insuline
 - Hétérosides cardiotoniques.Les isotopes utilisés sont le tritium, le carbone 14, l'iode 125

METHODE RIA : MECANISME



- La technique ELISA repose sur une réaction non isotopique en phase hétérogène : elle utilise des Ag marqués par une enzyme (méthode peu utilisée)

Avantages et inconvénients

- La sensibilité des méthodes en phase hétérogène est légèrement supérieure à celle des techniques en phase homogène
- Ces 2 méthodes sont **difficilement automatisables** car l'étape de séparation est indispensable : leur utilisation est donc limitée et mal adaptée à l'urgence
- La méthode RIA pose le problème de la manipulation et de l'élimination des matières radioactives

Immunochimie

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Immunochimie : technique EMIT

Principe

- C'est un immunodosage optique en phase homogène : pas d'étape de séparation des complexes Ag-Ac
 - Utilisée dans les laboratoires de biologie médicale :
 - comme méthode de dépistage de produits stupéfiants et des principaux toxiques
 - dans le suivi thérapeutique
-

Mécanisme

Prélèvements

- Sang
 - Urines
 - Volume de l'échantillon faible : microméthode
-

Avantages

- Méthode automatisable
 - Les réactifs EMIT s'adaptent à de nombreux automates de biochimie
 - Pas de prétraitement de l'échantillon, sauf pour la Ciclosporine et le Tacrolimus
 - Appliquée à de nombreuses substances, surtout médicamenteuses
 - Rapide : moins de 30 minutes
 - Adaptée à l'urgence
-

Inconvénients

- Réactifs coûteux
 - Toutes les molécules ne sont pas détectables en immunochimie : la possibilité de détecter une substance dépend de l'existence de kits
 - En toxicologie : manque de spécificité. Identification de classe et non de molécule (existence de faux négatifs et de faux positifs)
 - Résultat positif d'un immunodosage est une présomption jusqu'à ce qu'il soit confirmé par une technique séparative comme la CG/SM
 - Sensibilité moins bonne qu'en immunodosage par polarisation de fluorescence (FPIA), si on travaille en qualitatif (positif/négatif) par rapport à un seuil de positivité
-

Résultats

- Résultats qualitatifs ou semi quantitatifs en toxicologie
- Résultats quantitatifs : pertinents dans le cadre d'un suivi thérapeutique d'une molécule

connue

Applications

- Kits prêts à l'emploi : molécules détectables par EMIT

Immunochimie FPIA

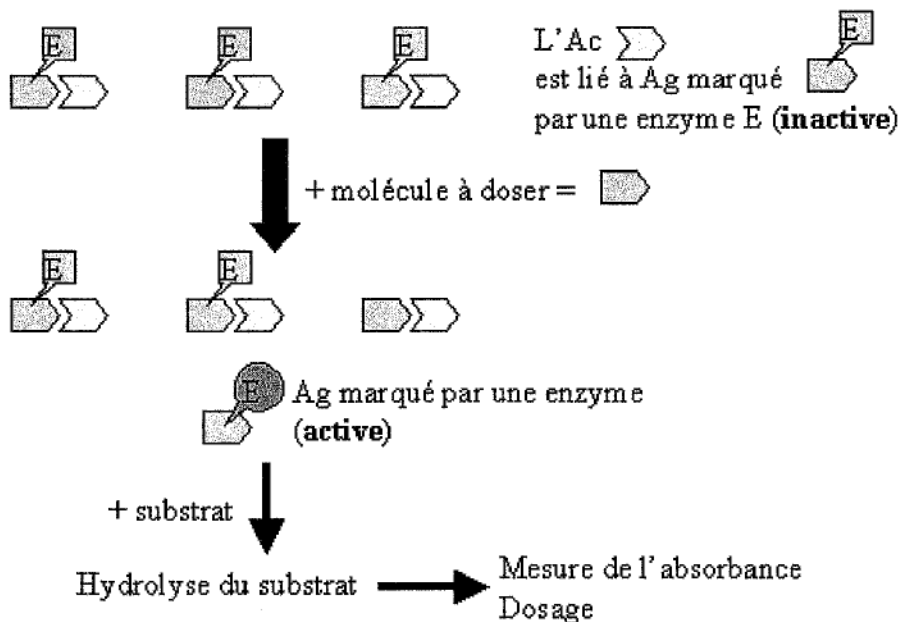
Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Mécanisme de EMIT

- On utilise un antigène marqué par une enzyme.
Exemple d'enzyme : glucose 6-phosphate deshydrogénase
- Cette technique est fondée sur la compétition entre la molécule à doser (Ag) et l'antigène marqué par une enzyme (G6PDH) pour occuper les sites de liaison des anticorps
- La fixation de l'Ag (médicament) à l'Ac libère l'Ag marqué par l'enzyme qui va pouvoir réagir avec un substrat :
 - l'enzyme passe alors de la forme inactive à la forme active
 - et devient donc capable d'hydrolyser le substrat (exemple de substrat : glucose 6-phosphate)
- La lecture est obtenue dans l'UV par la réduction de nicotinamide dinucléotide (NAD), cofacteur de la réaction, qui se transforme en NADH absorbant à 340 nm
- L'absorbance ou la variation d'absorbance engendrée par la réaction permet la quantification de la molécule à doser par comparaison à une courbe de référence

METHODE EMIT : MECANISME



Immunochimie EMIT généralités

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Kits prêts à l'emploi

Kits pour dosage de médicaments dans le sang

- Acide Valproïque
 - Caféine
 - Carbamazépine
 - Ciclosporine
 - Digitoxine
 - Digoxine
 - Disopyramide
 - Ethosuximide
 - Lidocaïne
 - Méthotrexate
 - Phénobarbital
 - Phénytoïne
 - Primidone
 - Procaïnamide
 - Quinidine
 - Tacrolimus
 - Théophylline
-

Kits pour dosage de toxiques dans le sang

- Alcool
 - Paracétamol
 - Salicylés
-

Kits pour recherche de toxiques dans le sang ou l'urine

- Antidépresseurs tricycliques
 - Barbituriques
 - Benzodiazépines
-

Kits pour recherche de stupéfiants dans les urines

- Amphétamines / Méthamphétamine
 - Cannabinoïdes
 - Cocaïne
 - LSD
 - Méthadone
 - Méthaqualone
 - Opiacés
 - Phencyclidine
 - Propoxyphène
-

Immunochimie EMIT généralités

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Immunochimie : technique FPIA

Généralités

Principe

- FPIA = fluorescence polarization immunoassay
- Cette technique associe une compétition immunologique à une mesure de polarisation de fluorescence

Mécanisme

- Compétition entre :
 - la molécule recherchée dans l'échantillon
 - la même molécule, ajoutée en quantité connue, marquée à la fluorescéine pour se fixer sur un Ac dirigé contre cette molécule
- On expose le milieu réactionnel à une lumière polarisée
- On mesure la polarisation de lumière de fluorescence réémise, qui est inversement proportionnelle à la quantité de molécule recherchée présente dans l'échantillon
- Approximation semi-quantitative ou dosage grâce à un étalonnage en 6 points

Prélèvements

- Sang +++
- Urine

Avantages

- Méthode automatisable
- Traitement de l'échantillon sans phase préliminaire d'extraction, sauf pour la Ciclosporine
- Résultats rapides, en moins de 30 minutes
- Appliquée à de nombreuses substances, surtout médicamenteuses
- Adaptée à l'urgence

Inconvénients

- Réactifs coûteux
- Toutes les molécules ne sont pas détectables en immunochimie : la possibilité de détecter une substance dépend de l'existence de kits
- Une drogue, non suspectée par le clinicien et dont la recherche n'a pas été spécifiquement demandée, n'est pas détectée à l'analyse
- Manque de spécificité en toxicologie : identification de classe et non de molécules

Résultats

- Qualitatifs ou semi quantitatifs : interprétation prudente
 - seuil choisi pour limiter les faux négatifs et les faux positifs
- Résultats quantitatifs : pertinents dans le cadre d'un suivi thérapeutique d'une molécule connue

Applications

- Kits prêts à l'emploi : molécules détectables par FPIA

Immunochimie Emit

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

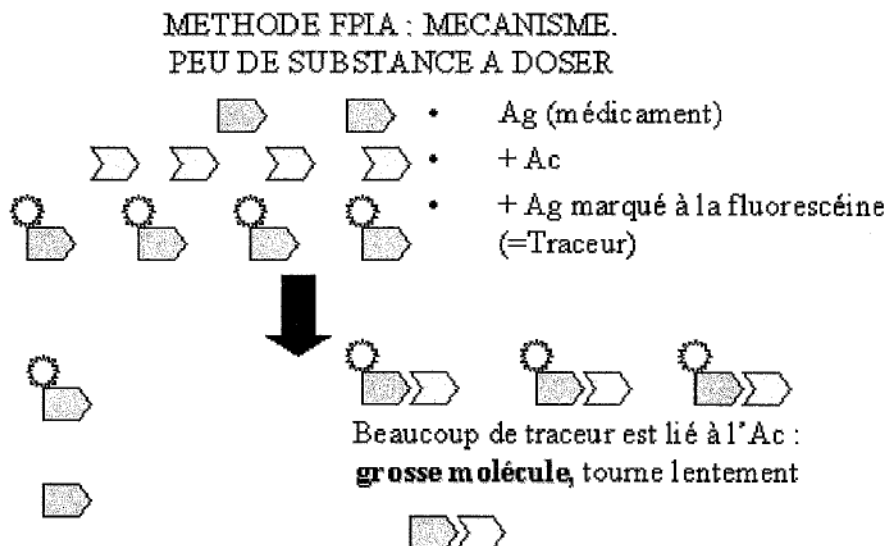
Mécanisme de FPIA

Rappels sur la lumière polarisée et la fluorescence

- Fluorescence
- Lumière polarisée
- Mouvements des molécules
- Polarisation de fluorescence

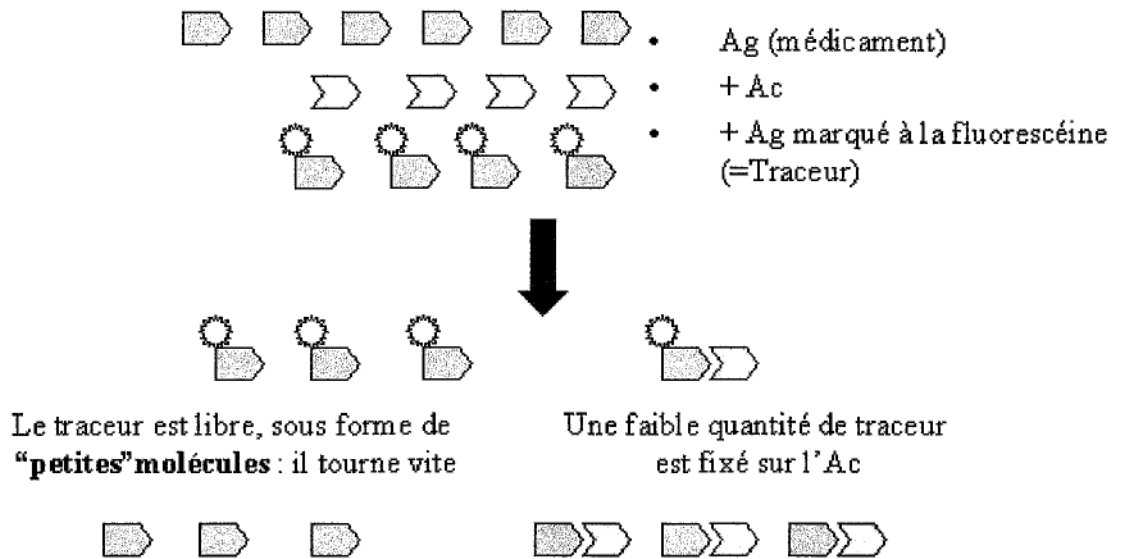
Compétition immunologique

- Il s'agit d'une réaction Ag-Ac où l'on met en présence :
 - un antigène : la substance à doser
 - une quantité connue du même antigène marqué à la fluorescéine (traceur)
 - une quantité connue d'anticorps (Ac) spécifique de l'Ag (antigène)
- Lors de la réaction, compétition entre
 - l'antigène marqué
 - la substance à doserpour se fixer sur l'Ac, du fait du nombre limité de sites à occuper
- Si la substance à doser est en faible quantité dans l'échantillon, beaucoup de traceur sera fixé sur l'Ac



- Au contraire, si la quantité de substance à doser est importante, le traceur sera peu fixé à l'Ac et restera libre dans le milieu réactionnel

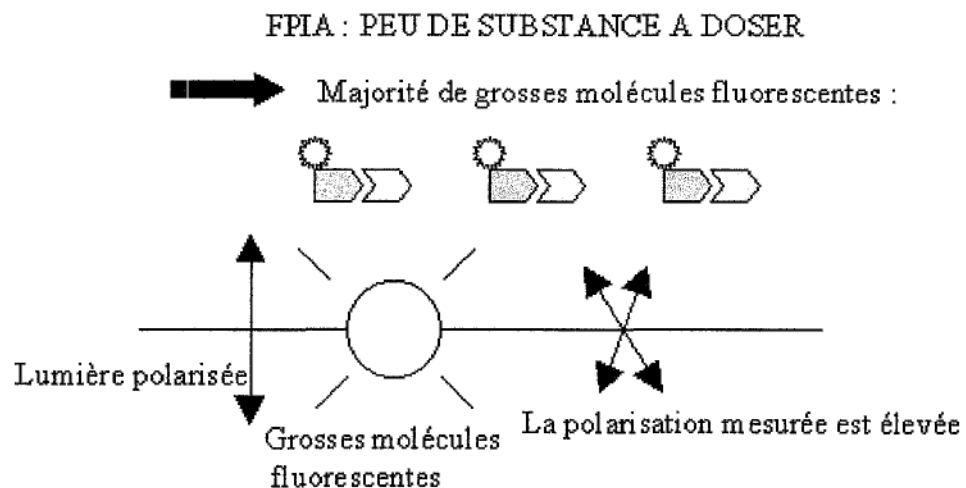
METHODE FPIA : MECANISME. BEAUCOUP DE SUBSTANCE A DOSER



- Ces 2 états seront mis en évidence et différenciés par la polarisation de fluorescence

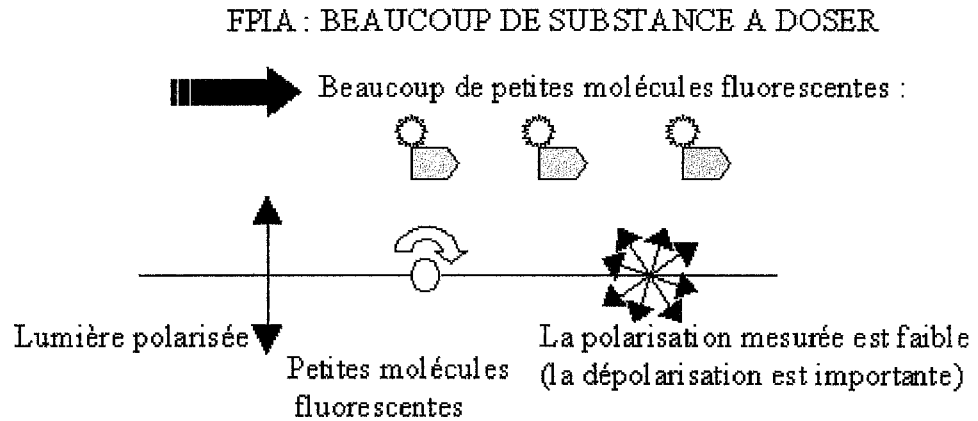
Mesure de la polarisation de fluorescence

- On envoie une lumière polarisée sur le milieu réactionnel
- On mesure la polarisation de la lumière réémise :
 - peu de médicament dans l'échantillon : molécules de traceur se fixent sur les Ac. Il y a donc une majorité de grosses molécules fluorescentes, qui tournent lentement : la polarisation mesurée est élevée



- o beaucoup de médicament dans l'échantillon : molécules à doser occupent la majorité des sites Ac.

Le traceur se trouve à l'état libre, sous forme de petites molécules qui tournent rapidement : la polarisation mesurée est faible



Immunochimie FPIA généralités

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Quelques rappels sur la lumière polarisée et la fluorescence

Fluorescence

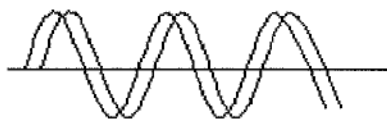
- Le marqueur utilisé est un fluorophore = la Fluorescéine
- Propriété de la Fluorescéine : molécule capable de réémettre une lumière fluorescente verte (à 525 nm) lorsqu'elle est excitée par une lumière bleue (à 485 nm)

Lumière polarisée

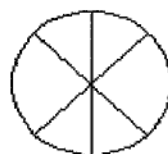
- La lumière naturelle émet des photons dans toutes les directions, à toutes les longueurs d'onde (lumière polychromatique).
Ces photons vibrent dans tous les plans de l'espace
- En interposant entre la source lumineuse et le système de lecture un filtre (monochromateur) et un polariseur, on obtient une lumière polarisée (qui vibre dans un seul plan), de longueur d'onde définie
- Schéma : lumière naturelle / lumière polarisée

LUMIERE NATURELLE, LUMIERE POLARISEE

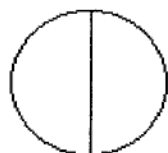
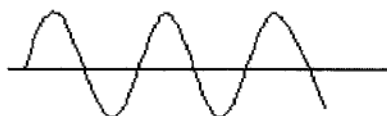
Lumière naturelle



Vue dans l'axe



Lumière polarisée



Mouvements des molécules

- Dans un milieu liquide, la vitesse de rotation des molécules dépend de leur taille
- Plus elle est petite (comme la fluorescéine), plus elle tournera vite
- Une grosse molécule, comme un anticorps, tournera lentement sur elle-même

Polarisation de fluorescence

- L'absorption et l'émission de lumière par des molécules fluorescentes dépendent de l'orientation de ces molécules
- Si on envoie une lumière polarisée dans le milieu réactionnel :
 - les molécules de fluorophore (comme la fluorescéine) , qui sont dans le plan de polarisation de la lumière, seront excitées et réémettront une lumière verte
 - le degré de polarisation de cette lumière verte est inversement proportionnel à la rotation des molécules entre le moment de l'excitation et celui de l'émission
- Dans une solution congelée de fluorescéine : les molécules sont immobilisées.
Si on envoie une lumière polarisée verticalement sur ces molécules, elles gardent la même orientation entre l'excitation et l'émission : la polarisation de la lumière incidente est conservée
- **Dans un milieu liquide** : les molécules de fluorescéine excitées par la lumière polarisée réémettent une lumière polarisée dans différents plans de polarisation, soit une dépolarisation de la lumière incidente : la polarisation est donc perdue

Immunochimie FPIA Généralités

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Inconvénients de FPIA

Manque de spécificité

- En ce qui concerne les applications en toxicologie, on cherche à identifier des classes de molécules. Le manque de spécificité peut donc être un avantage. Par contre, pour une recherche ciblée de molécules, le manque de spécificité est un inconvénient
- Les molécules d'une même famille présentent des réactivités très variées vis à vis de l'Ac et ne seront pas détectables aux même concentrations, avec la même sensibilité.
Ex : un taux sérique de 150 ng/ml en Benzodiazépines peut aussi bien correspondre à une concentration thérapeutique de Diazépam qu'à une concentration toxique de Lorazépam
- Certaines molécules d'une famille donnée ne sont pas reconnues par l'Ac dédié à cette famille: ce sont des faux négatifs
- Résultat positif d'un immunodosage est une présomption jusqu'à ce qu'il soit confirmé par une technique séparative comme la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
- Les applications de la technique FPIA sont limitées à l'existence d'un kit : actuellement, il n'existe aucun kit pour les IRS, les neuroleptiques, les diurétiques...
- Ces kits ne s'adaptent que sur des automates dits fermés

FPIA Généralités

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Kits prêts à l'emploi

Kits pour dosage de médicaments dans le sang

- Acide valproïque
 - Carbamazépine
 - Ciclosporine
 - Digitoxine
 - Digoxine
 - Méthotrexate
 - Phénobarbital
 - Phénytoïne
 - Quinidine
 - Tacrolimus
 - Théophylline
-

Kits pour dosage de toxiques dans le sang

- Ethanol
 - Paracétamol
 - Salicylés
-

Kits pour recherche de toxiques dans le sang ou l'urine

- Antidépresseurs tricycliques
 - Barbituriques
 - Benzodiazépines
-

Kits pour recherche de stupéfiants dans les urines

- Amphétamines
 - Cannabis
 - Cocaïne
 - Dextropropoxyphène
 - Méthadone
 - Opiacés
 - Phencyclidine
-

Immunochimie FPIA généralités

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Chromatographie

Mots clés en chromatographie

Notions générales

- Principe de la chromatographie
- Mécanisme

Les différentes méthodes chromatographiques

- Chromatographie en couche mince : CCM
- Chromatographie en phase gazeuse : CPG
 - phase mobile gazeuse
 - phase stationnaire solide ou liquide
- Chromatographie en phase liquide : CLHP
 - phase mobile liquide
 - phase stationnaire solide

Méthodes d'analyse

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Mots clés en chromatographie

Phase stationnaire	C'est une phase qui est fixée sur un support inerte ou emprisonnée dans une colonne
Phase mobile	C'est une phase (solvant) qui se déplace sur ou à travers la phase stationnaire et permet l'élution de l'échantillon, c'est la séparation des différents constituants
Chromatogramme	C'est un diagramme à 2 dimensions : • en abscisse : temps ou volume d'élution • en ordonnée : signal du détecteur Résultat : on obtient une courbe qui est formée d'autant de pics distincts qu'il y a de composés séparés par la colonne
Temps de rétention	Appelé aussi t_R. C'est le temps écoulé entre l'injection de l'échantillon et le maximum d'un pic. Ceci caractérise un constituant
L'élution	L'élution est un processus au cours duquel des solutés sont entraînés à travers une phase stationnaire par le mouvement d'une phase mobile
Temps mort	Appelé aussi t_M. C'est le temps nécessaire pour qu'une espèce non retenue traverse une colonne (encore appelé t_0)

Chromatographie

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

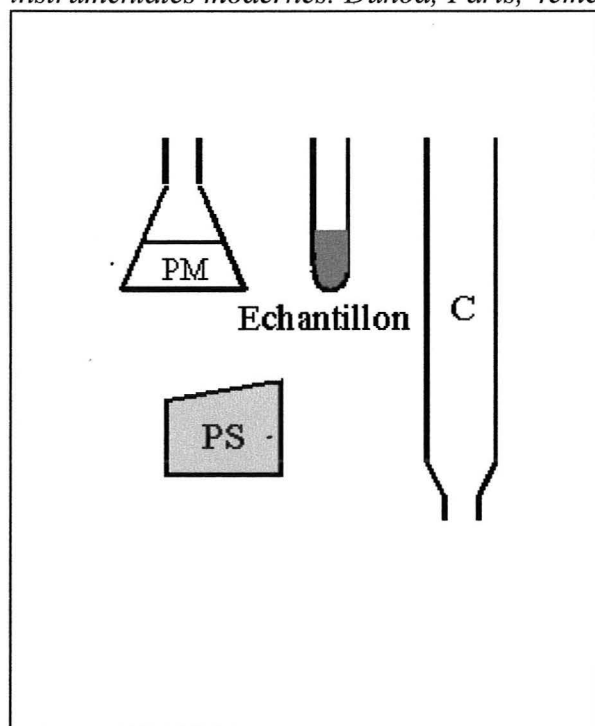
Notions générales : la chromatographie

Principe de la chromatographie

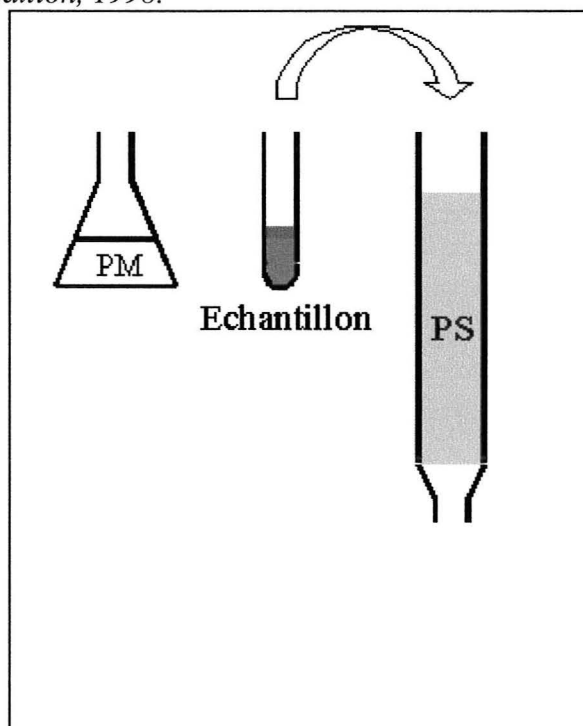
- Procédé de **séparation, identification et quantification** des constituants d'un mélange complexe
- Technique qui allie une bonne sensibilité et une grande spécificité
- Existence de 2 phases non miscibles :
 - une phase emprisonnée dans la colonne ou fixée sur un support : la **phase stationnaire**
 - une phase qui se déplace au contact de la phase stationnaire : la **phase mobile**
- L'entraînement des composés à séparer par la phase mobile, à des vitesses différentes, conduit à leur séparation. En fonction de leur affinité pour la phase stationnaire, les composés seront plus ou moins longtemps retenus au niveau de la colonne, ce qui permettra leur séparation
- La chromatographie est une technique dans laquelle les constituants d'un mélange se séparent en fonction des vitesses auxquelles ils sont entraînés à travers une phase stationnaire par une phase mobile gazeuse ou liquide

Mécanisme

D'après "ROUESSAC F., ROUESSAC A. Analyse chimique. Méthodes et techniques instrumentales modernes. Dunod, Paris, 4ème édition, 1998.



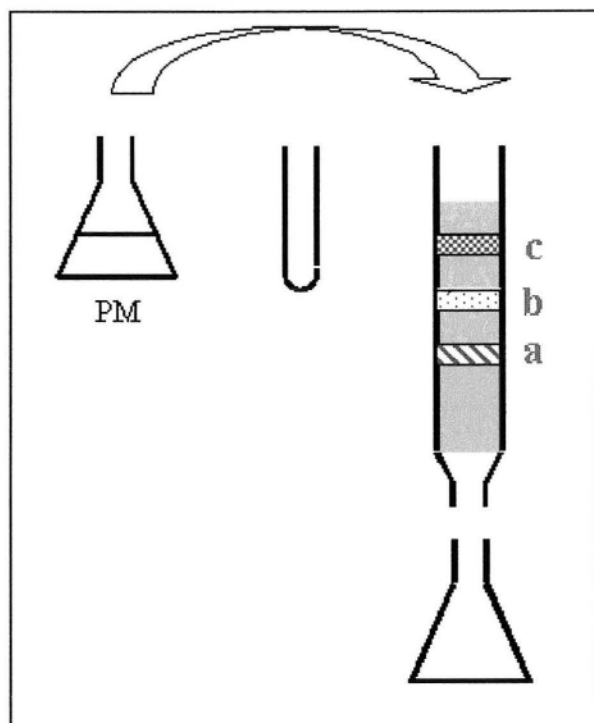
SCHEMA A



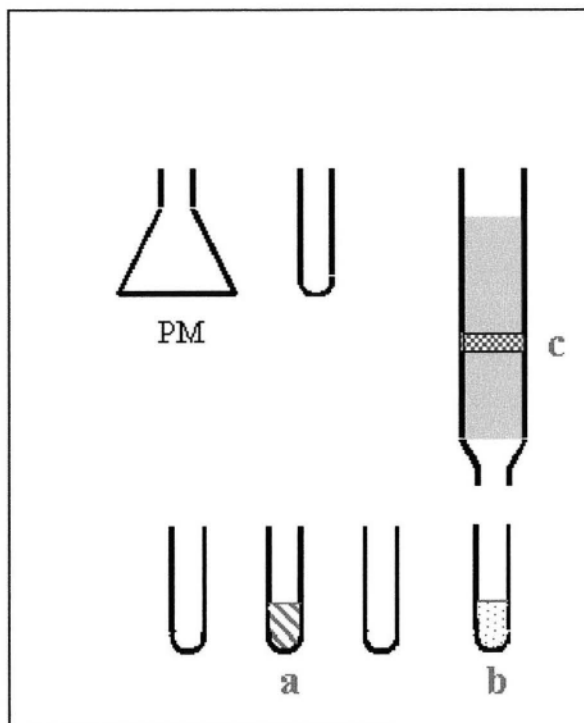
SCHEMA B

- PM : phase mobile
- PS : phase stationnaire
- C : colonne

- La PS est fixé au niveau de la colonne
- L' échantillon est introduit dans la colonne



SCHEMA C



SCHEMA D

- La PM est introduite dans la colonne : elle permet l'**élution de l'échantillon**
- Les différents constituants vont rester plus

ou moins longtemps au contact de la PS en fonction de leurs propriétés physico-chimiques.

- Les différents constituants de l'échantillon sont recueillis de façon séparée en sortie de colonne

Chromatographie

Tox-In: Copyright © 1999 (France).
Mise à jour le 11-05-2001

Chromatographie en couche mince : CCM

Principe

- Fait partie des méthodes dites séparatives
 - La séparation des constituants de l'échantillon est réalisée sur une plaque recouverte d'une fine couche de phase stationnaire, qui sera traversée par la phase mobile
-

Mécanisme

- Un petit volume d'échantillon est déposé sous forme de tâche (spot) sur une plaque recouverte d'une phase stationnaire (gel de silice, kieselgur, cellulose, silicate de magnésium....)
 - La migration des produits est réalisée dans une chambre de développement au moyen d'un mélange de solvants appropriés :
 - l'extrémité de la plaque, située près du dépôt, est trempée à une profondeur de quelques mm dans une cuve munie d'un couvercle et qui contient une petite quantité de phase mobile servant à l'élution
 - la phase mobile migre par capillarité à travers la phase fixe, entraînant à des vitesses différentes les constituants à séparer
 - quand le front du solvant a parcouru une distance suffisante, on retire la plaque de la cuve
 - on repère la position limite atteinte par la phase mobile et on évapore cette dernière
 - La révélation des constituants a lieu sous forme de tâches colorées, après pulvérisation ou trempage dans des réactifs
-

Prélèvements

- Tout liquide biologique
-

Avantages

- Technique simple
 - Apparition de méthodes hautes performances et une certaine automatisation
 - Possibilité de faire de la chromatographie bidimensionnelle afin d'augmenter les qualités séparatives (cas d'intoxications polymédicamenteuse) :
 - lorsque la migration est faite avec un premier mélange de solvant, on tourne la plaque chromatographique d'un quart de tour et l'on réalise une deuxième migration dans d'autres conditions
 - Conservation d'une trace de la migration : on peut ultérieurement récupérer la phase stationnaire et réaliser une deuxième analyse par une autre technique
-

Inconvénients

- Technique relativement longue
- Méthode peu sensible

- Spécificité limitée
- Les seuils de détection sont mauvais (de l'ordre de 1mg/l), ce qui en fait une technique exclusivement dédiée aux intoxications massives
- Interprétation délicate : nombreuses tâches inconnues
- Extraction préalable nécessaire

Résultats

- Dépistage qualitatif rapide
- Toute quantification reste approximative (taille et intensité de la tache à l'examen, lecture optique des taches)

Applications

- Pratiquement plus utilisée en toxicologie malgré l'automatisation
- Un seul système de recherche polyvalente résiste : Toxi-Lab AB

Chromatographie

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Chromatographie en phase gazeuse : CPG (CG)

Principe

- La phase mobile est un gaz, appelé gaz vecteur
- La phase stationnaire est :
 - soit un solide, qui retient les analytes par adsorption physique
 - soit un liquide, immobilisé sur la surface d'un support inerte ou greffée sur les parois de la colonne (CPG capillaire)
- Méthode particulièrement adaptée à la détection et au dosage des substances volatiles

Mécanisme

Les détecteurs

Appareillage

- Un appareil de CPG correspond schématiquement à la réunion de différents modules spécialisés :
 - l'injecteur
 - la colonne
 - le détecteur

Prélèvements

- Tout liquide biologique
- Cheveux

Avantages

- La CPG permet l'analyse d'un grand nombre de composés de masse moléculaire inférieure à 500, **thermorésistants** et **volatilisables**
- Cependant, si les substances à analyser sont très polaires, thermosensibles ou non volatilisables, on peut réaliser une étape de **dérivation** : différents réactifs sont disponibles selon les fonctions à modifier (silylation, acylation, méthylation...)
- Les substances volatiles (éthanol, méthanol, éthylène-glycol) sont facilement déterminées en une seule analyse à partir de sang total

Inconvénients

- Cette technique nécessite une **étape préalable de préparation** de l'échantillon, ceci pour rendre injectable l'échantillon :

- extraction
- purification
- concentration
- dérivation
- Le temps de rétention, caractéristique d'une substance, n'est pourtant pas suffisant pour identifier sans ambiguïté un pic chromatographique. Le couplage avec un spectromètre de masse permet d'obtenir une information pratiquement indiscutable sur la structure chimique de la substance détectée
- Long délai de réponse

Résultats

- Mixtes : qualitatifs et quantitatifs

Domaines d'application

- CPG/FID : dosage de méthanol, éthanol, éthylène glycol, méprobamate
- CPG/NPD, ECD : dosage de benzodiazépines, antidépresseurs
- CPG/SM : Screening toxicologique, dosage de tous les stupéfiants et leurs métabolites...

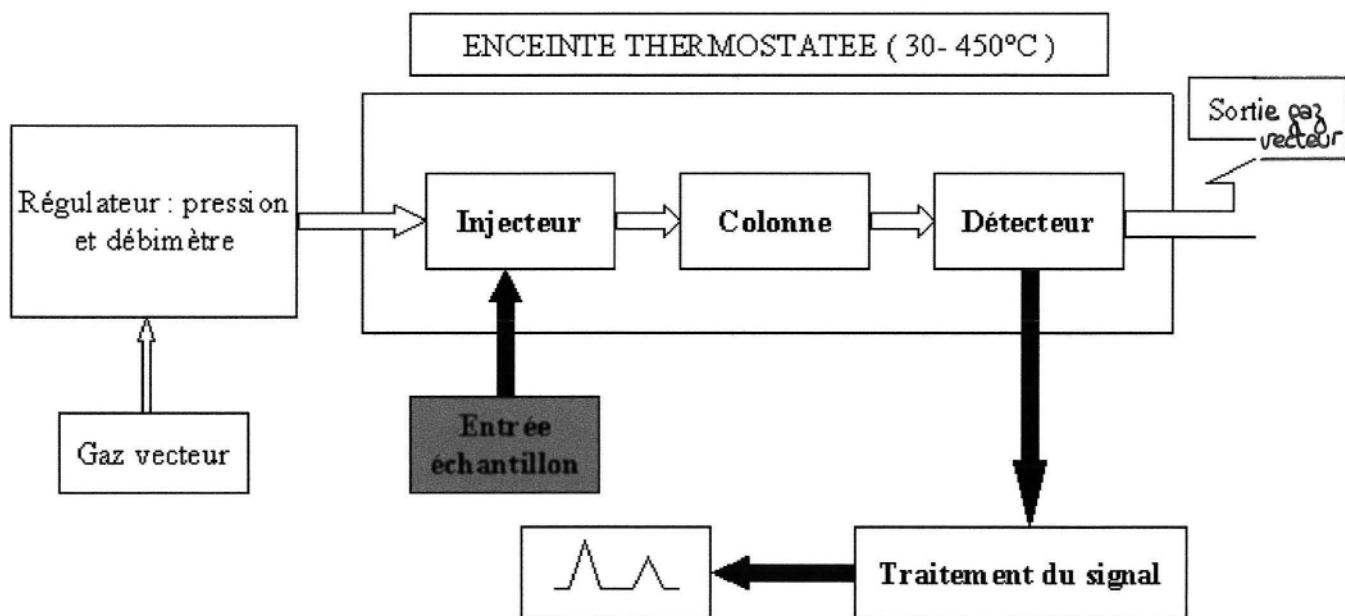
Chromatographie

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

CPG : mécanisme

- L'étape séparative est réalisée sur une colonne contenant une phase stationnaire, dont la température est régulée
- L'échantillon est vaporisé et introduit dans la colonne au moyen d'un injecteur adapté
- Un gaz vecteur (phase mobile) réalise l'élution des composés
- Les différents constituants de l'échantillon se répartissent entre la phase stationnaire et la phase mobile
- Les constituants qui ont le plus d'affinité pour la phase stationnaire y séjourneront plus longtemps, et donc atteindront le détecteur plus tardivement
- Le détecteur produit un signal qui pourra être enregistré
- Obtention d'un chromatogramme où chaque composé possède un temps de rétention spécifique



D'après "ROUESSAC F., ROUESSAC A. Analyse chimique. Méthodes et techniques instrumentales modernes. Dunod, Paris, 4ème édition, 1998. "

Chromatographie CPG

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

CPG : les détecteurs

Plusieurs types de détecteurs sont disponibles sur le marché et utilisés en toxicologie :

- **Détecteur à ionisation de flamme (FID) :**
 - détecteur universel pour tous les composés organiques
 - peu spécifique
 - sensibilité +
- **Détecteur thermoionique (NPD) ou azote-phosphore :**
 - pour les composés contenant un atome de N ou P
 - détection d'alcaloïdes, médicaments et pesticides organo-phosphorés
 - spécifique, sensible ++
- **Détecteur à capture d'électrons (ECD) :**
 - pour les composés halogénés et les noyaux aromatiques (adapté aux composés électrophiles)
 - détecteur de choix pour les benzodiazépines, les neuroleptiques, les pesticides
 - très sensible +++
- **Spectromètre de masse (SM): la référence absolue**
 - sensibilité et spécificité majeure +++
 - intérêt médico-légal

Chromatographie CPG

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Spectrométrie de masse (SM)

Généralités

- Méthode de détection
 - Détermination des masses des espèces atomiques ou moléculaires individuelles de l'échantillon à analyser
-

Principe de la méthode

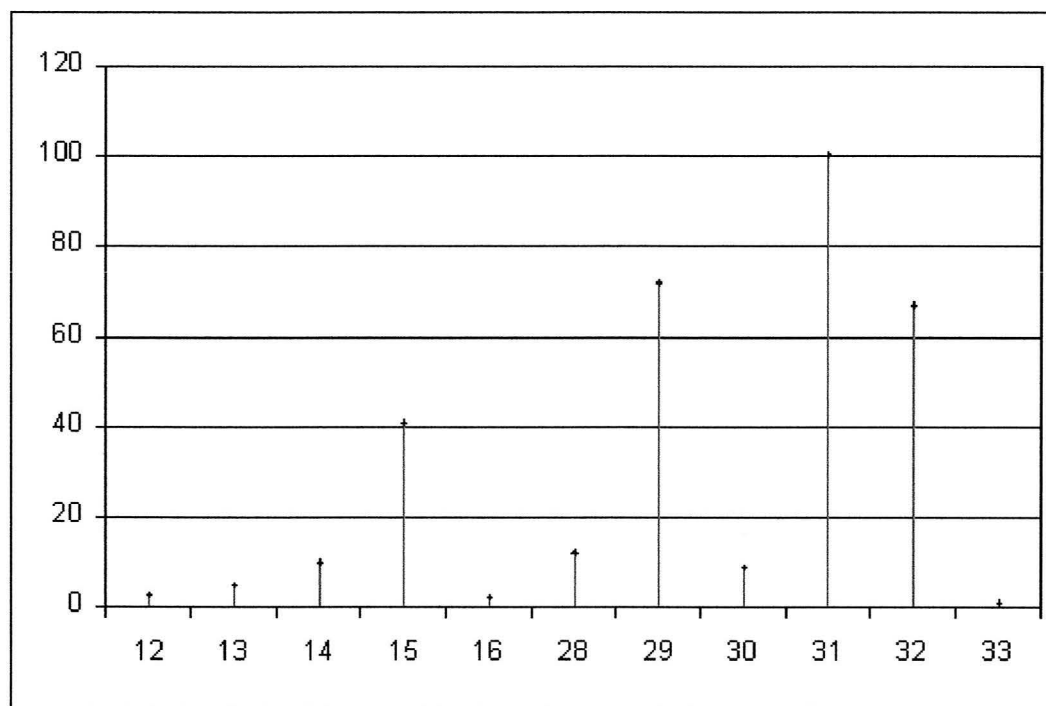
- Les composés, séparés en chromatographie, sont bombardés par un flux d'électrons et soumis à des champs électriques et/ou magnétiques
 - Les molécules vont se scinder au niveau des liaisons les plus fragiles, libérant spécifiquement des espèces ioniques, de masse déterminée
 - Les fragments dissociés sont sélectionnés en fonction du rapport de leur masse et de leur charge électrique
 - Les différentes étapes sont donc :
 - l'ionisation : le composé à analyser est vaporisé et ionisé. On aboutit à un mélange d'ions de fragmentation
 - l'accélération des ions formés
 - la séparation : les ions sont filtrés selon leur rapport masse/charge
 - la détection : les ions frappent un détecteur qui quantifie les charges électriques
 - la formation du spectre de masse
-

Résultats

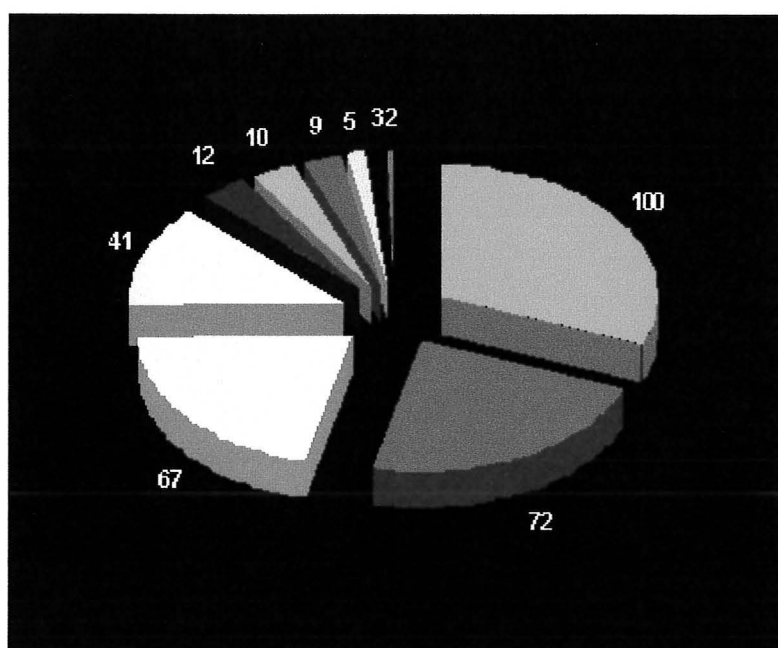
- Le spectre de masse d'un composé représente l'abondance statistique de chaque type d'ion formé, suivant son rapport masse/charge dans l'ordre croissant
 - L'enregistrement traduit, en intensité, chaque espèce apparue à partir de l'échantillon
 - Le spectre de masse est un spectre de fragmentation, représenté sous la forme de "barres"
 - répartition des ions en fonction de leur masse
 - intensité exprimée en % du pic le plus intense
 - Ce spectre est reproductible et caractéristique du produit (si on opère dans les mêmes conditions)
 - Existence d'une bibliothèque de spectre de masse
-

Exemple du méthanol

- On ionise, par bombardement d'électrons, un échantillon de méthanol (CH_3OH) passé à l'état gazeux
- Une fraction de molécules est transformée en espèces porteuses de charges
- Ces ions, à l'état excité, vont se fragmenter
- Tous ne se dissocient pas de la même façon
- On observe alors la formation de divers ions dont les masses sont inférieures à celle de la molécule de départ
- Spectre de masse du méthanol :



- Représentation non conventionnelle du même spectre sous forme d'un diagramme circulaire : statistiquement, pour 321 ions formés, il y en a 100 de masse 31 u (Da) , 72 de masse 29, 67 de masse 32, 41 de masse 15, etc...



D'après "ROUESSAC F., ROUESSAC A. Analyse chimique. Méthodes et techniques instrumentales modernes. Dunod, Paris, 4ème édition, 1998. "

Avantages

- Outil le plus performant du marché qui allie sensibilité et spécificité
- CPG/SM ou CLHP/SM (encore rare) permet une triple caractérisation du composé à analyser par :

- le temps de rétention du produit dans la colonne du chromatographe
- la masse moléculaire
- la masse de chaque fragment issu de sa dissociation
- Le couplage CPG/SM constitue l'une des meilleures méthodes d'analyse des mélanges

Inconvénients

- Cette méthode détruit l'échantillon
- Méthode longue et lourde
- Nécessité d'un personnel qualifié

Chromatographie CPG CLHP

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Chromatographie liquide haute performance : CLHP (LC)

Principe

- La phase mobile est constituée par un mélange de solvants, de polarité et de force ionique variables, qui circule grâce à un système de pompage
- La phase stationnaire est constituée de billes de faible diamètre (généralement moins de 10 μm)
- Méthode qui s'adresse aux composés apolaires comme aux composés très polaires, et surtout aux substances thermosensibles

Mécanisme

Les détecteurs

Appareillage

- Dans toute installation de CLHP, on retrouve divers modules :
 - les pompes débitmétriques : pour forcer le passage de la phase mobile à travers la colonne dont le remplissage est très compact
 - l'injecteur
 - la colonne
 - le détecteur

Prélèvements

- Sang
- Urine...

Avantages

- La CLHP permet l'analyse :
 - de composés thermosensibles
 - de composés apolaires comme très polaires
 - de molécules de masses moléculaires élevées
- Modification possible de la phase mobile au cours de l'élution

Inconvénients

- Nécessité d'une étape de purification à partir de l'échantillon biologique : extraction liquide/liquide ou en phase solide
- Long délai de réponse

Résultats

- Mixtes : qualitatifs et quantitatifs

Domaines d'application

- CLHP/DAD : Screening toxicologique, dosage de médicaments
- CLHP/SM : permet l'analyse de produits faiblement concentrés (buprénorphine, digitaliques, LSD, flunitrazépam...) ou difficile à doser en CG/SM

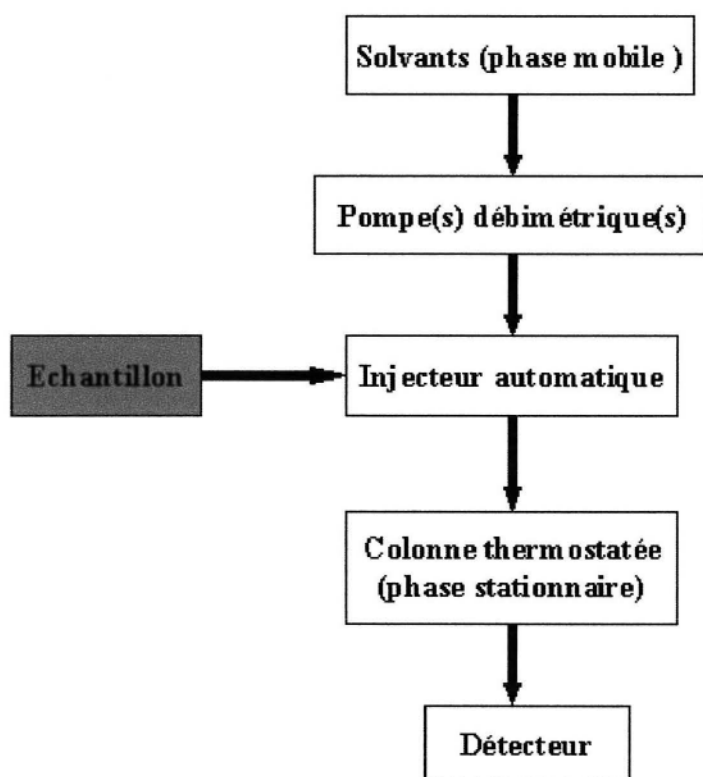
Chromatographie

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

CLHP : mécanisme

- La colonne, qui contient la phase stationnaire est traversée par le mélange de solvants
- Le faible diamètre des particules qui constituent la phase stationnaire entraîne des pressions en tête de colonne très importantes
- Pour obtenir des débits adéquats de séparation il faut un système de pompage apte au traitement de telles contraintes
- L'échantillon est injecté sous des pressions de plusieurs centaines de bars
- En fonction de leurs propriétés physico-chimiques et de la nature de la phase mobile, les analytes vont être plus ou moins longtemps retenus sur la colonne et seront séparés en sortie de colonne
- Ils seront détectés puis le signal sera enregistré
- Obtention d'un chromatogramme où chaque composé possède un temps de rétention spécifique



D'après "ROUESSAC F., ROUESSAC A. Analyse chimique. Méthodes et techniques instrumentales modernes. Dunod, Paris, 4ème édition, 1998. "

Chromatographie CLHP

*Tox-In: Copyright © 1999 (France).
Mise à jour le 11-05-2001*

CLHP : détecteurs

Plusieurs types de détecteurs sont disponibles sur le marché et utilisés en toxicologie :

- Détecteur UV à longueur d'onde variable ou fixe :
 - détecteur universel pour tous les composés absorbant dans l'UV
 - peu spécifique
- Détecteur à barrette de diodes (DAD) :
 - détecteur très performant
 - associe temps de rétention et spectre UV-visible pour chaque composé
 - spécifique, sensible
 - idéal pour le screening
- Spectromètre de masse : la référence absolue
 - sensibilité et spécificité majeure
 - intérêt médico-légal

Chromatographie CLHP

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Détecteur UV et visible

Principe

- Les molécules qui absorbent en UV/Visible peuvent être dosées grâce à cette propriété
 - Chaque molécule a un maximum d'absorption auquel sera réalisée la mesure
-

Mécanisme

- L'absorption de rayonnement UV et visible par des molécules se traduit par des bandes d'absorption électroniques, constituées de nombreuses raies
 - Chaque raie résulte de la transition d'un électron, de l'état fondamental à l'un des nombreux états énergétiques roto-vibrationnels de l'état excité
 - Les états énergétiques sont très nombreux et ne diffèrent que très légèrement
 - Le nombre de raies contenues dans une bande est donc très grand et leur espacement infime
-

Appareillage

- Spectrophotomètre :
 - détecteur monochromatique
 - détecteur polychromatique ou à **barrette de diode (DAD)** :
 - ce type de détecteur permet soit de changer de longueur d'onde en cours d'analyse, soit d'enregistrer l'absorbance à plusieurs longueurs d'onde simultanément
 - il est aussi possible de capter tout un domaine de longueurs d'onde sans interrompre la circulation dans la colonne
 - on obtient donc un spectre complet
 - ce détecteur est utilisé couplé à la CLHP
-

Applications

- La quantification utilise l'absorption moléculaire (spectro UV et visible) à des longueurs d'ondes données :
 - soit sur des molécules isolées par une méthode chromatographique
 - soit sur des molécules mises en évidence par leur réactivité chimique par un agent ajouté (colorimétrie)
-

Avantages

- CLHP/UV : permet le dosage de divers médicaments
 - CLHP/DAD : utilisé pour les screening toxicologiques et le dosage de divers médicaments
 - associe temps de rétention et spectre UV pour chaque composé (de 200 à 400 nm)
 - spécifique et sensible
 - existence de bibliothèques de spectres
-

Inconvénients

- Une extraction de l'échantillon biologique et une gamme d'étalonnage sont nécessaires pour chaque dosage
- Il est nécessaire que la molécule à doser ait un spectre caractéristique et qu'il n'y ait pas dans le milieu biologique d'autres molécules absorbant dans les mêmes gammes de longueurs d'ondes

Chromatographie CLHP

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Méthodes analytiques les plus fréquentes

Méthodes	Qualitatif ou quantitatif	Précision	Spécificité	Sensibilité	Détection simultanée de plusieurs substances	Difficulté de réalisation	Durée	Difficulté d'interprétation	Coût
Spectro UV	Mixte	Bonne	+	+	Non	++	2 h	++	Moyen
CCM	Qualitatif	Bonne	++	+	Oui	++	2 à 4 h	+++	Faible
CPG	Mixte	Très bonne	+++	++	Oui	+++	2 à 6 h *	++	Moyen
CPG / SM	Mixte	Très bonne	++++	+++	Oui	+++	2 à 6 h	+++	Important
CLHP/ DAD	Mixte	Très bonne**	+++	++	Oui	+++	2 h	++	Moyen **
RIA	Quantitatif	Variable ***	++	+++	Non	++	2 à 4 h	+	Important
Immuno-chimie	Qualitatif ou semi quantitatif	Variable	++	++	Oui mais ne les différencie pas	+	0.5 h	++	Important

D'après "P. LHEUREUX, V. MAES, R. ASKENASI : Du bon usage du laboratoire de toxicologie. 2ème partie : utilité clinique et interprétation des résultats. Réan. Urg., 1996, 5 (3) : 341-352."

CCM : Chromatographie en couche mince

CPG : Chromatographie en phase gazeuse

SM : Spectrométrie de masse

CLHP : Chromatographie liquide haute performance

RIA : Radio-immuno assay

FPIA : Fluorescence polarization immuno assay

*sans extraction préalable pour les substances volatiles : moins de 30 min

**dépend de la méthode de détection utilisée

***selon la spécificité de l'anticorps utilisé

Méthodes d'analyse

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Méthodes d'analyse utilisées en toxicologie

Méthodes	Applications	Praticabilité	Durée	Coût	Fiabilité
Immunochimie quantitative sang	Alcoolémie	+++	20 min	++	Bonne
	Aspirine	+++	20 min	+++	Sensible et fiable
	Paracétamol	+++	20 min	+++	Sensible et fiable
	Digoxine	+++	20 min	+++	Sensible et fiable
	Antiépileptiques	+++	20 min	+++	Sensible et fiable
	Théophylline	+++	20 min	+++	Sensible et fiable
Immunochimie qualitative sang	Benzodiazépines	+++	20 min	+++	Sensibilité variable
	Antidépresseurs	+++	20 min	+++	Spécificité de classe
Immunochimie qualitative urine	Cannabis	+++	20 min	+++	Spécificité de classe
	Morphiniques	+++	20 min	+++	Spécificité de classe
	Cocaine	+++	20 min	+++	Spécificité de classe
	Amphétamines	+++	20 min	+++	Spécificité de classe
	Méthadone	+++	20 min	+++	Spécificité de classe
	Dextropropoxyphène	+++	20 min	+++	Spécificité de classe
	LSD	+++	20 min	+++	Spécificité de classe
SAA	Lithium	+	1h	+	Spécifique
	Mercure	+	8h	++	Spécifique
	Arsenic	+	8h	++	Spécifique
	Plomb	+	8h	++	Spécifique
	Cadmium	+	8h	++	Spécifique
CPG/FID, NPD ou ECD	Dosage de :				
	Méthanol	++	1 à 8h	+	Sensible et spécifique
	Ethylène glycol	++	1 à 8h	+	
	Méprobamate	++	1 à 8h	+	
	Benzodiazépines	++	1 à 8h	+	
	Antidépresseurs	++	1 à 8h	+	
CLHP/DAD,UV	Screening toxicologique	++	3h	+	Sensible pour les benzodiazépines et les antidépresseurs
	Dosage de médicaments	++	9h	+	
CPG/SM CLHP/SM	Screening toxicologique Dosage de tous les stupéfiants et de leurs métabolites	+	4 à 8h	+++	Sensibilité et très grande spécificité

Spectrométrie UV et visible	Recherche de :				
	Phénothiazines	++++	5 min	0	peu sensible
	Salicylés	++++	5 min	0	peu sensible
	Méprobamate	+	2 h	+	dépistage
	Chloroquine	+	2 h	+	de surdosage
	Cyanures	+	4 h	+	dépistage de
	Dérivés chlorés	+	4 h	+	surdosage
	Paraquat	+	8 h	+	dosage exceptionnel
					dosage exceptionnel

+++ : coût élevé

+ : faible coût

Méthodes d'analyse

*Tox-In: Copyright © 1999 (France).**Mise à jour le 11-05-2001*

Choix de la démarche analytique

Généralités

- L'utilisation des recherches doit être sélective et motivée
 - En tenant compte des priorités préalablement établies avec les services cliniques, la stratégie analytique dépend :
 - de l'équipement présent au sein du laboratoire
 - de la nature du prélèvement
-

Le dépistage toxicologique

- But de cette étape :
 - confirmer ou infirmer un diagnostic
 - Caractéristiques de cette étape :
 - rapidité
 - recherche de familles moléculaires
 - Mise en oeuvre de 2 catégories de méthodes :
 - réactions colorées
 - réactions immunochimiques : résultats qualitatifs ou semi-quantitatifs
-

Identification moléculaire et dosage

- Plusieurs buts sont visés :
 - relancer la recherche analytique en cas de discordance ou d'absence de conclusions à la fin du dépistage toxicologique
 - identifier la ou les molécules en cause
 - doser le toxique pour savoir si l'intensité du symptôme est en relation avec la concentration mesurée et pour permettre la surveillance de l'intoxication
 - Etape exigeante :
 - en équipement matériel analytique :
 - CG/SM
 - LC/DAD
 - en compétence humaine
 - en temps
-

Le screening ou recherche approfondie

Démarche analytique en toxicologie d'urgence

Accueil

Le dépistage toxicologique

Objectifs

- Confirmer la présomption du clinicien
 - Elle doit être contemporaine de l'examen clinique et pouvoir en moins d'une heure apporter sa participation au raisonnement clinique
 - Consiste à rechercher ou à exclure de manière systématique les toxiques par des méthodes analytiques simples et rapides
-

Caractéristiques

- Mise en place de techniques qualitatives dans un premier temps
 - Rapidité
 - Les médicaments les plus fréquemment incriminés doivent être recherchés à ce stade
 - Recherche de familles moléculaires avec une faible exigence de spécificité (cette réserve doit être connue du clinicien pour éviter des erreurs diagnostiques voire thérapeutiques)
 - Mise en oeuvre de 2 catégories de méthodes :
 - réactions colorées pour les recherches dans l'urine ou le liquide gastrique
 - réactions immunochimiques applicables le plus souvent au sérum mais aussi à l'urine
-

Avantages

- Ne nécessite pas de traitement préanalytique
 - Peut être mise en oeuvre par tous les laboratoires d'analyses médicales
-

Inconvénients

- Reste limitée car elle ne permet pas de mettre en évidence de nombreux produits responsables d'intoxications graves
 - Tout résultat positif devra être confirmé par une méthode plus spécifique (CG/SM par exemple) en cas d'implications médico légales
-

Applications

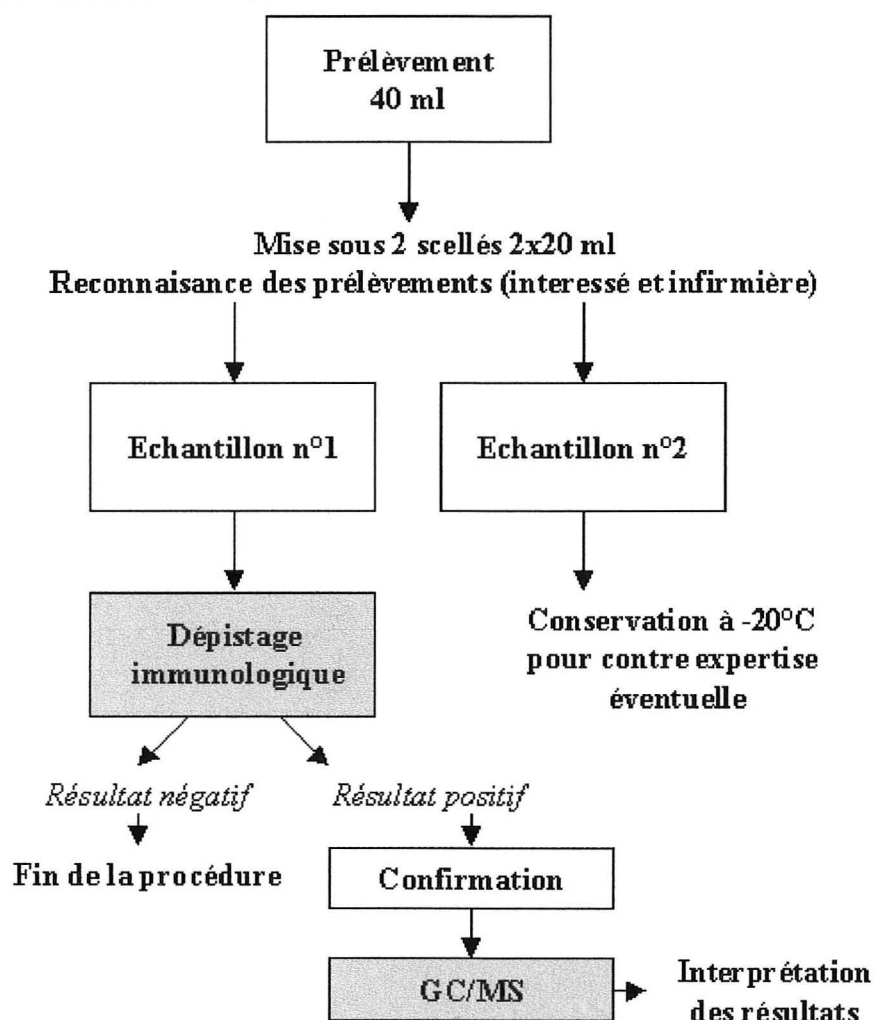
- Chaine de qualité de dépistage des conduites toxicophiles dans un cadre médico légal
-

Choix de la démarche analytique

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Chaîne de qualité de dépistage des conduites toxicophiles



D'après "KINTZ P. Le dépistage des conduites toxicophiles."

Dépistage toxicologique

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Identification moléculaire et dosage : résultats quantitatifs

Objectifs

- Après la détection d'un toxique, le laboratoire confirme sa présence par une méthode indépendante
 - Cette confirmation peut être **quantitative**
-

Caractéristiques

- Cette étape est exigeante en équipement matériel analytique, en compétence humaine, et en temps
 - La molécule doit être identifiée et dosée spécifiquement pour qu'une relation entre la dose et l'effet puisse être établie
 - Les méthodes analytiques répondant le mieux à cette exigence de spécificité sont les méthodes chromatographiques couplées à des détecteurs :
 - CG/SM
 - LC/SM , CLHP/DAD
-

Avantages

- Cette démarche accroît la fiabilité des résultats
 - On peut ainsi différencier les taux thérapeutiques ou les légers surdosages des intoxications plus graves
 - Seule la quantification du toxique (ou de ses métabolites) permet de déterminer les symptômes qui lui sont attribuables
-

Inconvénients

- Cette étape est fastidieuse et coûteuse
 - Les méthodes analytiques utilisées nécessitent toutes une extraction des molécules à partir des liquides biologiques
 - L'interprétation pertinente d'un dosage doit tenir compte de nombreux facteurs :
 - délai entre l'ingestion et le dosage : paramètre cinétique
 - existence de métabolites actifs
 - mécanisme de toxicité
 - âge du patient
 - phénomène de tolérance
 - terrain
 - associations de toxiques
 - type d'intoxication : à concentrations plasmatiques identiques, la symptomatologie peut varier selon le mode de l'intoxication (intoxication aigüe, surdosage ou exposition chronique)
-

Choix de la démarche analytique

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Paramètres cinétiques

- Les dosages très précoces (moins de 4 heures après l'ingestion) faussent l'évaluation, car absorption digestive et distribution tissulaire ne sont pas encore accomplies
- Une analyse toxicologique répétée au cours de la phase initiale de l'intoxication permet de mieux évaluer le risque (cas du paracétamol)
- Un large volume de distribution démontre un important stockage tissulaire : des concentrations sériques faibles peuvent donc être associées à une toxicité importante
- Certaines substances sont absorbées, distribuées et métabolisées si rapidement que des concentrations significatives sont difficiles à démontrer dans le sérum en dépit d'une toxicité évidente (cocaïne, phencyclidine) : les recherches sont alors focalisées sur les urines
- La fraction libre, qui s'équilibre avec les tissus, est responsable des manifestations toxiques, or la liaison protéique est variable d'un sujet à l'autre (âge, albuminémie) ou chez un même individu

Identification moléculaire et dosage

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Métabolites actifs

- L'absence de corrélation entre les concentrations plasmatiques de la substance mère et les symptômes peut être due à la présence de métabolites actifs non dosés par la technique utilisée
- Ce phénomène est en partie responsable de la difficulté d'interprétation des concentrations des benzodiazépines et de l'absence fréquente de corrélation
- Les antidépresseurs tricycliques subissent des biotransformations (métabolites actifs et toxiques) : au cours d'une intoxication aiguë, les concentrations du métabolite, la nortriptyline, sont parfois supérieures à celle de la substance mère, l'amitriptyline
- De ce fait, une relation entre les concentrations plasmatiques d'amitriptyline et la symptomatologie n'est souvent notée qu'au cours de la phase initiale de l'intoxication lorsque les concentrations de nortriptyline sont encore peu élevées
- Certains métabolites sont plus toxiques que la substance mère : acide formique et méthanol, acides oxalique, glyoxylique et éthylène glycol

Identification moléculaire et dosage

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001



Mécanisme de toxicité

- De manière générale, on peut distinguer 3 types de toxiques en fonction de leur mécanisme d'action :
 - **les toxiques fonctionnels**
 - **les toxiques lésionnels**
 - **les toxiques mixtes** : la toxicité de certaines substances comporte les 2 mécanismes
 - la substance mère est un toxique fonctionnel mais des lésions cellulaires peuvent survenir après un certain délai :
 - soit par l'intermédiaire d'une hypoxie cellulaire prolongée (monoxyde de carbone, cyanure)
 - soit par la formation de métabolites cytotoxiques (méthanol, éthylène glycol)
 - l'interprétation devra prendre en compte à la fois :
 - la concentration plasmatique de la substance mère
 - le moment où elle a été mesurée
 - la durée de l'exposition
 - et éventuellement les concentrations plasmatiques des métabolites

Identification moléculaire et dosage

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

L'âge du patient

- La toxicité peut varier en fonction de l'âge
 - Au cours d'une intoxication chronique par la théophylline par exemple, les symptômes et le pronostic sont, à concentrations plasmatiques identiques, plus sévères chez les sujets âgés que chez les jeunes enfants
 - Chez les sujets âgés, des convulsions peuvent survenir à partir d'une théophyllinémie de 35 mg/l
 - En revanche, chez les enfants, la gravité est inversement proportionnelle à l'âge
-

Identification moléculaire et dosage

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Le phénomène de tolérance

- Surtout observé pour les psychotropes et l'éthanol
- Dans les intoxications par les barbituriques ou benzodiazépines, les troubles neurologiques sont, à concentrations plasmatiques identiques, moins sévères chez les patients traités de manière chronique par ces médicaments
- La tolérance à l'éthanol des patients alcooliques chroniques est bien connue : des alcoolémies de 3 à 4 g/l n'étant parfois associées qu'à des troubles neurologiques mineurs

Identification moléculaire et dosage

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Les maladies sous-jacentes, le terrain

- A théophyllinémie identique, le risque de toxicité est augmenté en cas d'insuffisance cardiaque congestive ou de bronchopneumopathie chronique obstructive en raison d'une diminution de la métabolisation hépatique
- A concentrations plasmatiques identiques, la toxicité de tous les cardiotropes est plus importante chez les patients présentant une cardiopathie préalable
- Les benzodiazépines à de faibles concentrations peuvent induire, chez des patients présentant une insuffisance respiratoire chronique, une détresse respiratoire sans altération majeure de la conscience
- En raison de l'élimination exclusivement rénale du lithium, le pronostic des intoxications est plus sévère en cas d'insuffisance rénale

Identification moléculaire et dosage

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Associations médicamenteuses

- Ces associations peuvent aggraver ou diminuer la sévérité des symptômes
- Au cours des intoxications par les psychotropes, l'absence de corrélation entre les concentrations plasmatiques et la symptomatologie est le plus souvent liée à l'ingestion concomitante d'alcool
- Au cours d'intoxications par plusieurs cardiotropes exerçant des effets synergiques, des symptômes graves peuvent survenir malgré des concentrations plasmatiques relativement peu élevées de chacune des drogues
- L'association de benzodiazépines et d'antidépresseurs tricycliques diminue le risque de survenue de crises convulsives

Identification moléculaire et dosage

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Le screening ou recherche approfondie

Définition

- Le screening consiste en une combinaison d'analyses réalisées sur différents liquides biologiques
 - Il tente de détecter une série de substances ciblées
 - Idéalement, il inclut :
 - les substances qui sont le plus souvent impliquées dans l'épidémiologie locale
 - les substances dangereuses ou difficiles à reconnaître par la symptomatologie clinique
 - les substances qui peuvent nécessiter un traitement spécifique
 - Dans la plupart des cas, la procédure est abrégée et orientée en fonction des informations et des priorités définies par le clinicien
 - Certains laboratoires réalisent un screening type en fonction de la présentation clinique :
 - toxicomanie
 - ingestion médicamenteuse et coma
 - syndrome anticholinergique...
-

Indications du screening toxicologique

- Un screening toxicologique doit être réalisé :
 - lorsque la présomption d'intoxication est associée à une présentation clinique grave :
 - coma
 - convulsions
 - dépression respiratoire
 - instabilité hémodynamique
 - arythmies
 - altérations métaboliques importantes
 - psychose
 - ou associée à d'autres conditions (traumatisme par exemple) qui compliquent le diagnostic étiologique
 - ou si la présentation clinique est discordante
-

Echantillons

- 5 à 10 ml de sang coagulé et anticoagulé
 - et un échantillon de 50 ml d'urine
-

Points essentiels

- Le screening toxicologique ne détecte pas tout
- Un screening en urgence est rarement nécessaire
- Le praticien doit savoir si les substances qu'il suspecte ont été effectivement recherchées lorsqu'un screening est annoncé négatif, afin d'éviter tout malentendu
- Les seuils de détection doivent être précisés par le laboratoire
- Un système de surveillance de l'épidémiologie locale doit être organisé, pour que les services du laboratoire s'adaptent aux besoins du praticien

Limites

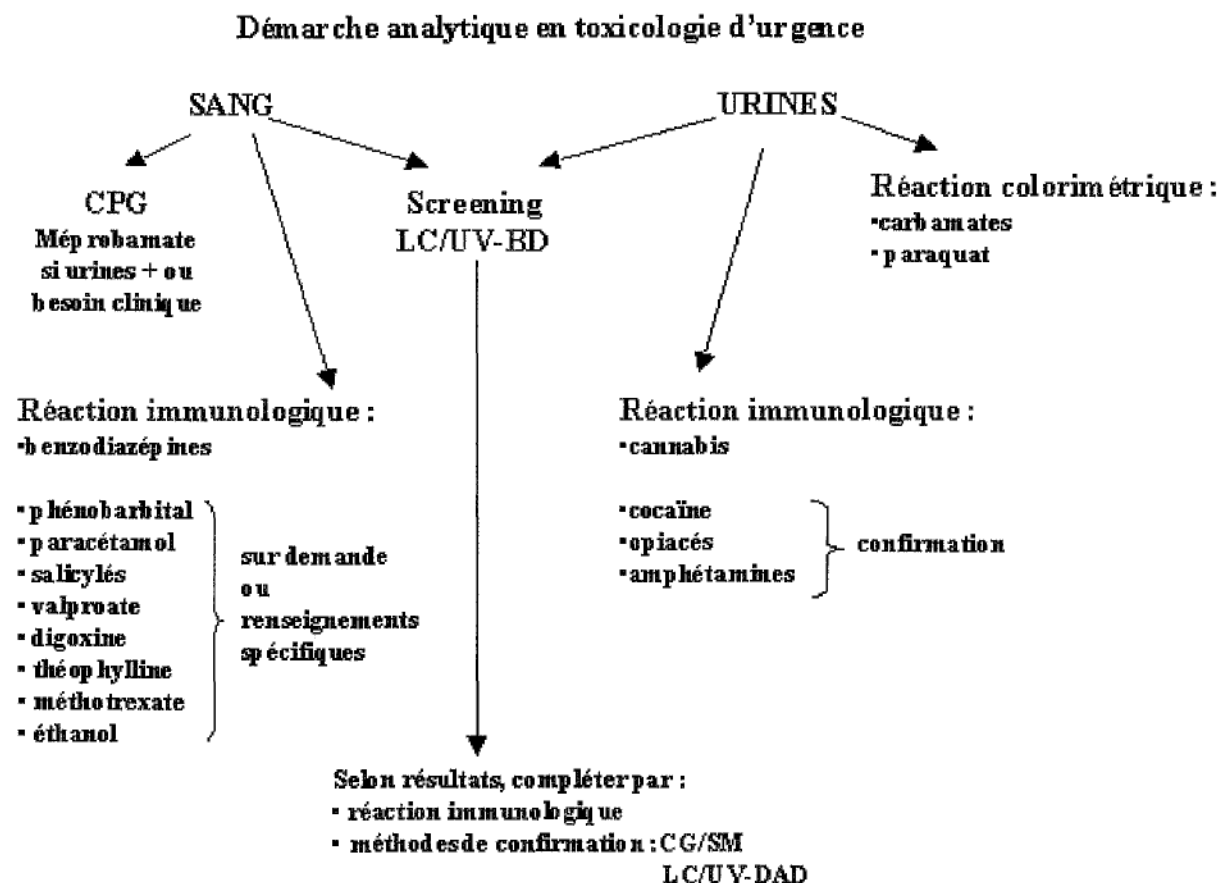
- De nombreux produits responsables d'intoxications graves ne sont habituellement pas inclus :
Ex : clonidine, monoxyde de carbone, cyanure, antagonistes calciques, bêta-bloquants ou bêta-adrénergiques, fer, colchicine, anti-paludéens, digitaliques, antiarythmiques, amatoxine, méthanol, éthylène glycol...
- Contraintes économiques touchant le laboratoire
- La concordance entre suspicions cliniques et découvertes analytiques est extrêmement variable :
 - chez le petit enfant : une grande proportion d'intoxications est liée aux produits ménagers qui ne sont qu'exceptionnellement repris dans les recherches
 - chez l'enfant plus âgé ou chez l'adolescent : médicaments et drogues illicites sont plus souvent impliqués, mais c'est l'anamnèse qui apporte la meilleure contribution diagnostique et les analyses influencent peu le traitement

Choix de la démarche analytique

Tox-In: Copyright © 1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

Démarche analytique en toxicologie d'urgence



D'après "CAPOLAGHI B., MOULSMA M., HOUDRET N., BAUD F. Stratégies analytiques en toxicologie d'urgence. Annales de Toxicologie Analytique, 2000, 12 : 274-281."

Choix de la démarche analytique

Tox-In: Copyright © 1999 (France).
Mise à jour le 11-05-2001

Médicaments et produits industriels : taux thérapeutiques/normaux et taux toxiques

Les taux rapportés ici sont extraits des publications suivantes :

- Meyer FP. Indicative therapeutic and toxic drug concentrations in plasma : a tabulation. International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics 1994, 32, 2, 71-81.
- Repetto MR, Repetto M. Concentrations in human fluids : 101 drugs affecting the digestive system and metabolism. Clinical Toxicology 1999, 37, 1, 1-8.
- Repetto MR, Repetto M. Habitual, toxic, and lethal concentrations of 103 drugs of abuse in humans. Clinical Toxicology 1997, 35, 1, 1-9.
- Repetto MR, Repetto M. Therapeutic, toxic, and lethal concentrations in human fluids of 90 drugs affecting the cardiovascular and hematopoietic systems. Clinical Toxicology 1997, 35, 4, 345-351.
- Repetto MR, Repetto M. Therapeutic, toxic, and lethal concentrations of 73 drugs affecting respiratory system in human fluids. Clinical Toxicology 1998, 36, 4, 287-293.
- Stead AH, Moffat AC. A collection of therapeutic, toxic and fatal blood drug concentrations in man . Human Toxicology 1983, 3, 437-464.
- Wennig R. Laboratory diagnosis of poisonings. In : Human Toxicology. J. Descotes ed. Amsterdam, Elsevier Science BV, 1996, 25-237

Attention : malgré toute l'attention portée à ce travail, des erreurs sont possibles. Un avis spécialisé doit être demandé au moindre doute.

Médicaments et produits industriels		
DCI	Taux thérapeutiques/normaux	Taux toxiques
Acébutolol	0,2 à 1.5 mg/l	15 à 20 mg/l
Acénocoumarol	0,03 à 0,1 mg/l	> 0,1 mg/l
Acétonitrile	cf cyanure et thiocyanate	
Acide acétylsalicylique	20 à 100 mg/l	>150 mg/l
Acide valproïque	50 à 100 mg/l	130 à 150 mg/l
Alimémazine	0,05 à 0,4 mg/l	> 0,5 mg/l
Alprazolam	0,01 à 0,05 mg/l	>0,075 mg/l
Alprénolol	0,05 à 0,1 mg/l	> 0,1 mg/l
Amfépramone	0,007 à 0,2 mg/l	> 1 mg/l
Amikacine	15 à 30 mg/l	> 30 mg/l
Amiodarone	0,7 à 2 mg/l	> 2,5 mg/l
Amitriptyline	0,06 à 0,24 mg/l	> 0,5 mg/l
Amoxapine	0,2 à 0,4 mg/l	> 0,5 mg/l
Amphétamines (dex)	0.02 à 0.15 mg/l	>0,2 mg/l
Amphotéricine B IV	1 à 1.5 mg/l	>5 mg/l

Amrinone	1 à 4 mg/l	> 2,5 mg/l
Aprindine	0,75 à 2,5 mg/l	2 à 3 mg/l
Arsenic		> 0,5 mg/l
Aténolol	0,1 à 1 mg/l	> 2 mg/l
Atropine	0,002 à 0,03 mg/l	> 0,1 mg/l
DCI	Taux thérapeutiques/normaux	Taux toxiques
Baclofène	0,08 à 0,6 mg/l	> 1 mg/l
Benzène		0,9 à 38 mg/l
Bismuth	0.05 à 0.09 mg/l	>0,1 mg/l
Bromazepam	0,08 à 0,2 mg/l	> 0,3 mg/l
Bromure		> 1250 mg/l
Buflomédil	0,2 à 0.5 mg/l	> 25 mg/l
Bupivacaïne	1,4 à 4,8 mg/l	4 à 8 mg/l
Buprénorphine	0,001 à 0,005 mg/l	
DCI	Taux thérapeutiques/normaux	Taux toxiques
Camphre		0,3 à 1,7 mg/l
Captopril	0,05 à 0,5 mg/l	> 6 mg/l
Carbamates (médicaments)	20 à 40 mg/l	> 50 ou 100 mg/l
Carbamazépine	4 à 12 mg/l	12 à 70 mg/l
Carbénicilline	100 mg/l	> 300 mg/l
Chlorophacinone		0,1 à 14 mg/l
Chloroquine	0,02 à 0,5 mg/l	> 1 mg/l
Chlorphéniramine	0,003 à 0,02 mg/l	> 0,5 mg/l
Chlorpropamide	30 à 150 mg/l	>200 mg/l
Ciclosporine	0,1 à 0,3 mg/l	> 0,3 mg/l
Cimétidine	0.25 à 1.5 mg/l	>3 mg/l
Clomipramine	0,05 à 0,15 mg/l	0,4 à 0,6 mg/l
Clonazépam	0.01 à 0.08 mg/l	> 0.1 mg/l
Clozapine	0.1 à 0.5 mg/l	> 0.6 mg/l
Cocaïne	0 à 0.3 mg/l	>0,5 mg/l
Codéine	0,01 à 0,1 mg/l	> 0,2 mg/l
Colchicine	0,0003 à 0,0025 mg/l	> 0,005 mg/l
Cyamémazine	0,05 à 0,4 mg/l	> 9,8 mg/l
Cyanure		0,5 à 50 mg/l
DCI	Taux thérapeutiques/normaux	Taux toxiques
Dapsone	0,5 à 5 mg/l	15 à 20 mg/l

Désipramine	0,05 à 0,3 mg/l	> 0,5 mg/l
Deslanoside	0,0005 à 0,0025 mg/l	> 0,003 mg/l
Dexchlorphéniramine	0,008 à 0,0116 mg/l	> 1 mg/l
Dextromoramide	0,09 mg/l	>0,11 mg/l
Dextropropoxyphène	0,05 à 0,5 mg/l	> 0.6 mg/l
Diazépam	0,1 à 1.5 mg/l	1,5 à 15 mg/l
Diazoxide	10 à 20 mg/l	> 50 mg/l
Diclofénac	0,5 à 3 mg/l	> 60 mg/l
Diffunisal	40 à 90 mg/l	> 500 mg/l
Digitoxine	0.003 à 0.025 mg/l	> 0.03 mg/l
Digoxine	0 à 0,002 mg/l	> 0.003 mg/l
Dihydrocodéine	0,03 à 0,25 mg/l	0.3 à 1 mg/l
Diltiazem	0,1 à 0,4 mg/l	> 0,8 mg/l
Dinitro-o-crésol (DNOC)		20 à 80 mg/l
Diphényldramine	0.02 à 0.1mg/l	> 0.6 mg/l
Dipyridamole	0.1 à 2 mg/l	> 4 mg/l
Diquat		> 0,06 mg/l
Disulfiram	0,05 à 0,4 mg/l	> 5 mg/l
Dosulépine	0,05 à 0,2 mg/l	> 0,8 mg/l
Doxépine	0,05 à 0,15 mg/l	> 0,5 mg/l
Doxycycline	5 à 10 mg/l	> 30 mg/l
Doxylamine	0,06 à 0,1 mg/l	> 0,2 mg/l
DCI	Taux thérapeutiques/normaux	Taux toxiques
Ephédrine	0,02 à 0,1 mg/l	> 1 mg/l
Erythromycine	0,5 à 4 mg/l	>12 mg/l
Estazolam	0,07 à 0,8 mg/l	> 1 mg/l
Ethambutol	2 à 5 mg/l	> 6 mg/l
Ethanol	taux légal 0,5 g/l	1000 à 2000 mg/l
Ethosuximide	40 à 100 mg/l	> 100 mg/l
Ethylène glycol	0	200 à 500 mg/l
DCI	Taux thérapeutiques/normaux	Taux toxiques
Félodipine	0,001 à 0,008 mg/l	> 0,01 mg/l
Fer	14 à 35 micromol/l	2,7 à 25,7 mg/l
Flécaïnide	0,2 à 1 mg/l	2 à 3 mg/l
Flunarizine	0,025 à 0,2 mg/l	> 0,3 mg/l
Flunitrazépam	0,001 à 0,015 mg/l	> 0,05 mg/l
Fluphénazine	0,001 à 0,025 mg/l	0,05 à 0,1 mg/l

Ganciclovir	0,2 à 12,5 mg/l	3 à 20 mg/l
Gentamicine	0,5 à 10 mg/l	> 12 mg/l
Gliclazide	1,5 à 3,9 mg/l	> 35 mg/l
Gluthétimide	5 à 10 mg/l	> 20 mg/l
Halopéridol	0,005 à 0,04 mg/l	0,05 à 0,1 mg/l
Hydrocodone	0,01 à 0,1 mg/l	> 0,1 mg/l
Hydroxyzine	0,03 à 0,09 mg/l	> 0,1 mg/l
Imipramine	0,05 à 0,25 mg/l	> 0,5 mg/l
Indométacine	0,3 à 3 mg/l	> 5 mg/l
Isopropanol	> 10 mg/l (travailleur)	> 3300 mg/l
Itraconazole	0,25 à 2 mg/l	> 2 mg/l
Kanamycine	1 à 15 mg/l	> 25 mg/l
DCI	Taux thérapeutiques/normaux	Taux toxiques
Labétolol	0,025 à 0,2 mg/l	> 0,5 mg/l
Lévomépromazine	0,005 à 0,15 mg/l	> 0,4 mg/l
Lidocaïne	0,2 à 5 mg/l	> 6 mg/l
Lindane		0,2 à 0,8 mg/l
Lithium	0,5 à 1,3 mmol/l	> 1,5 mmol/l
Lorazépam	0,02 à 0,25 mg/l	> 0,3 mg/l
Loxapine	0,005 à 0,01 mg/l	> 0,2 mg/l
DCI	Taux thérapeutiques/normaux	Taux toxiques
Magnésium	1.3 à 2 mEq/l	> 4 mEq/l
Malathion		100 à 1880 mg/l
Maprotiline	0.03 à 0.2 mg/l	> 0.3mg/l
MDA	0 à 0.4 mg/l	> 1.5 mg/l
MDEA		> 2 mg/l
MDMA = XTC	0 à 0.35 mg/l	0,5 à 1 mg/l
Mépivacaïne	2 à 4 mg/l	> 6 mg/l
Méprobamate	5 à 15 mg/l	10 à 25 mg/l
Mescaline		> 9 mg/l
Métamizole	0,05 à 1 mg/l	> 2 mg/l
Metformine	0,1 à 2 mg/l	> 45 mg/l
1-Méthadone	0,04 à 0,3 mg/l	> 0.5 mg/l
Méthamphétamine	0.01 à 0.05 mg/l	>0,2 mg/l
Méthanol		> 200 mg/l
Méthotrexate (MTX)		C° à 24 H > 1,8 mg/l
Méthylropa	1 à 5 mg/l	> 7 mg/l

Métoclopramide	0,04 à 0,1 mg/l	0,1 à 0,2 mg/l
Métoprolol	0,02 à 0,6 mg/l	> 1 mg/l
Métronidazole	10 à 30 mg/l	> 200 mg/l
Méxilétine	0,5 à 2 mg/l	2 à 4 mg/l
Miansérine	0,03 à 0,12 mg/l	> 0,5 mg/l
Milrinone	0,15 à 0,25 mg/l	> 0,3 mg/l
Morphine	0 à 0.1 mg/l	> 0,1 mg/l
DCI	Taux thérapeutiques/normaux	Taux toxiques
Naproxène	20 à 50 mg/l	> 400 mg/l
Nétilmicine	2 à 8 mg/l	> 12 mg/l
Nicotine		> 5 mg/l
Nifédipine	0,02 à 0,1 mg/l	> 0,1 mg/l
Nitrazépam	0,03 à 0,1 mg/l	> 0,2 mg/l
Nitrofurantoïne	0,5 à 2 mg/l	3 à 4 mg/l
Nordiazépam	0,1 à 1.7 mg/l	1,5 à 2 mg/l
Nortryptiline	0,05 à 0,25 mg/l	> 0,5 mg/l
Opipramol	0,05 à 0,2 mg/l	> 0,5 mg/l
Oxazépam	0,1 à 1.4 mg/l	> 2 mg/l
Oxprénolol	0,05 à 1 mg/l	> 2 mg/l
Oxyde nitreux		> 80 mg/l
DCI	Taux thérapeutiques/normaux	Taux toxiques
Paracétamol	7,5 à 23 mg/l	voir courbe
Paraquat		voir courbe
Parathion		0,5 à 34 mg/l
Pefloxacin	0,1 à 10 mg/l	> 25 mg/l
Penfluramine	0,03 à 0,3 mg/l	> 0,5 mg/l
Pentazocine	0,01 à 0,2 mg/l	> 1 mg/l
Perhéxilline	0,5 à 2 mg/l	> 4 mg/l
Perphénazine	0,001 à 0,02 mg/l	> 0,05 mg/l
Péthidine	0,1 à 0,5 mg/l	> 0.5 mg/l
Phénacétine	5 à 20 mg/l	> 50 mg/l
Phéniramine	0,1 à 0,3 mg/l	> 1 mg/l
Phénazone	1 à 20 mg/l	20 à 50 mg/l
Phencyclidine (PCD)	0,01 à 0,2 mg/l	0,1 à 0,8 mg/l
Phénobarbital	10 à 25 mg/l	15 à 30 mg/l
Phénylbutazone	50 à 150 mg/l	250 à 500 mg/l
Phénytoïne	3 à 15 mg/l	> 20 mg/l
Pindolol	0,015 à 0,08 mg/l	> 0,7 mg/l

Pipampérone	0,1 à 0,4 mg/l	0,5 à 0,6 mg/l
Pipérazine	0,02 à 0,1 mg/l	> 0,5 mg/l
Pipotiazine	0,001 à 0,06 mg/l	> 0,1 mg/l
Plomb		> 0,4 mg/l
Prazépam	0,05 à 0,2 mg/l	1 à 5 mg/l
Prazosine	0,001 à 0,03 mg/l	> 0,9 mg/l
Primidone	5 à 10 mg/l	> 15 mg/l
Procaïnamide	2,5 à 8 mg/l	8 à 10 mg/l
Procaïne	0,2 à 2,5 mg/l	> 15 mg/l
Prométhazine	0,05 à 0,4 mg/l	> 1 mg/l
Propafénone	0,3 à 1,6 mg/l	> 2 mg/l
Propranolol	0,02 à 0,9 mg/l	> 1 mg/l
Protryptiline	0,05 à 0,25 mg/l	> 0,5 mg/l
Pseudoéphédrine	0,5 à 0,7 mg/l	> 10 mg/l
Pyriméthamine	0,07 à 0,25 mg/l	> 6 mg/l
DCI	Taux thérapeutiques/normaux	Taux toxiques
Quinidine	0,3 à 5 mg/l	5 à 15 mg/l
Quinine	2 à 8 mg/l	> 10 mg/l
Salbutamol	0,004 à 0,015 mg/l	> 0,03 mg/l
Sisomycine	4 à 6 mg/l	> 12 mg/l
Sotalol	0,5 à 3 mg/l	> 5 mg/l
Sulfasalazine	5 à 30 mg/l	> 50 mg/l
Sulindac	0,5 à 5 mg/l	> 100 mg/l
Témazépam	0,02 à 0,8 mg/l	> 1 mg/l
Tétrachlorométhane		20 à 260 mg/l
Tétracycline	5 à 10 mg/l	> 30 mg/l
Tétrazépam	0,05 à 0,6 mg/l	> 1 mg/l
Théophylline	8 à 15 mg/l	15 à 20 mg/l
Thiocyanates	1 à 4 mg/l (non fumeur) 3 à 12 mg/l (fumeur)	35 à 53 mg/l
Thiopropérazine	0,001 à 0,02 mg/l	> 0,1 mg/l
Thioridazine	0,15 à 2,5 mg/l	2 à 5 mg/l
Tobramycine	0,5 à 12 mg/l	> 12 mg/l
Tolbutamide	40 à 100 mg/l	100 à 500 mg/l
Trifluopérazine	0,005 à 0,05 mg/l	0,1 à 0,2 mg/l
Trihécxyphénidyle	0,04 à 0,12 mg/l	> 0,5 mg/l
Triméthoprime	1,5 à 2,5 mg/l	> 10 mg/l
Trimipramine	0,02 à 0,2 mg/l	> 0,5 mg/l

DCI	Taux thérapeutiques/normaux	Taux toxiques
Vancomycine	10 à 35 mg/l	> 40 mg/l
Vérapamil	0,05 à 0,5 mg/l	> 1 mg/l
Viloxazine	0,5 à 5 mg/l	> 45 mg/l
Warfarine	1 à 7 mg/l	> 10 mg/l
Zidovudine (AZT)	0,1 à 1,5 mg/l	2 à 3 mg/l
Zolpidem	0,03 à 0,2 mg/l	> 0,5 mg/l
Zopiclone	0,01 à 0,05 mg/l	> 0,05 mg/l
Zuclopentixol	0,005 à 0,05 mg/l	0,15 à 0,3 mg/l

Accueil

Tox-In: Copyright©1999 (France).

Mise à jour le 11-05-2001

THESE SOUTENUE PAR :

Valérie BAGA et Stéphanie CHAFFAROD

TITRE : LES ANALYSES TOXICOLOGIQUES SUR PARACELSE

CONCLUSIONS

L'objectif de cette thèse était de mettre à jour les données concernant l'analyse toxicologique sur Paracelse. Ce serveur de toxicologie clinique est une base de connaissances sur les intoxications humaines aiguës qui regroupe différents thèmes : protocoles, antidotes, syndromes... et analyse toxicologique. Nous avons donc utilisé comme support le module informatique existant « Analyse toxicologique » pour le compléter et le développer.

Nous avons voulu que ce travail soit accessible à un grand public : scientifiques, étudiants et personnes non initiées à cette discipline. Notre démarche se veut donc pédagogique et didactique, introduisant l'analyse toxicologique en milieu hospitalier d'une façon générale et abordable par tous.

Notre thèse s'organise à partir d'un écran principal (accueil), qui permet d'accéder aux différentes parties du module :

- points essentiels
- indications de l'analyse toxicologique
- prélèvements : nature de l'échantillon
- méthodes d'analyse : cette partie présente les principales méthodes utilisées en analyse toxicologique hospitalière :
 - immunochimie (FPIA, EMIT, RIA)
 - techniques de chromatographie (CCM, GC, LC). Elles peuvent être couplées à différents détecteurs (SM, DAD) qui sont développés dans le module
 - spectrométrie d'absorption atomique
 - colorimétrie
- choix de la démarche analytique
- taux thérapeutiques, taux toxiques.

Les informations sont hiérarchisées grâce à différents types de « puces », ce qui facilite la lecture à l'écran. Des hypermots (mots colorés et soulignés) renvoient à des écrans détaillés. Des schémas et des tableaux ont été insérés pour permettre une meilleure compréhension.

Ce module peut être consulté :

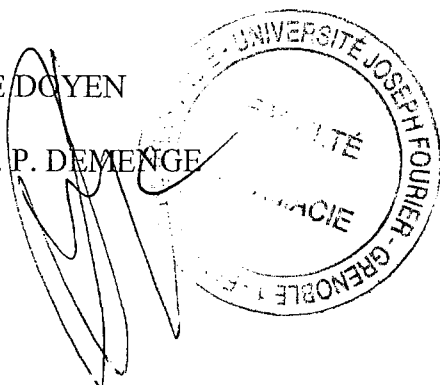
- sur le réseau intranet du CHU de Grenoble
- sur internet : <http://www.egora.fr>

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Grenoble, le

LE DOYEN

M. P. DEMENGE



LE PRESIDENT DE THESE

Mme J. ALARY

A handwritten signature in dark ink, appearing to be 'J. Alary', is written in a stylized, cursive manner.

LEXIQUE

Ac : anticorps
Ag : antigène
AVC : accident vasculaire cérébral
C : colonne
CCM : chromatographie sur couche mince
CIVD : coagulation intra-vasculaire disséminée
CLHP ou LC : chromatographie liquide haute performance
CO : monoxyde de carbone
CPG ou GC : chromatographie en phase gazeuse
DAD : détecteur à barrette de diode
E : enzyme
ECBU : examen cyto-bactériologique urinaire
ECD : détecteur à capture d'électrons
ECG : électrocardiogramme
ELISA : enzyme linked immunosorbent assay
EMIT : enzyme multiplied immunoassay technique
FID : détecteur à ionisation de flamme
FPIA : fluorescence polarization immunoassay
IRS : inhibiteurs de la recapture de la sérotonine
NAD : nicotinamide dinucléotide
NPD : détecteur thermoionique
PM : phase mobile
PS : phase stationnaire
RIA : radioimmunodosage
SAA : spectrométrie d'absorption atomique
SM : spectrométrie de masse
TP : taux de prothrombine
tM : temps mort
tR : temps de rétention

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. BOUCHER C., GRISOLLET C. Intoxications par champignons : aide au diagnostic par Internet. Diplôme d'état de docteur en pharmacie, Grenoble, 1997.
2. CAPOLAGHI B., MOULSMA M., HOUDRET N., BAUD F. Stratégies analytiques en toxicologie d'urgence. *Annales de Toxicologie Analytique*, 2000, **12** : 274-281.
3. CHARLIER C., PLOMTEUX G. La place actuelle de l'immunoanalyse en toxicologie clinique. *Immunoanal. Biol. Spéc.*, Elsevier, Paris, 1996, **11** : 225-239.
4. FLANAGAN R.J. Guidelines for the interpretation of analytical toxicology results and unit of measurement conversion factors. *Ann. Clin. Biochem.* 1998, **35** : 261-267.
5. GAILLARD Y. Méthodes analytiques. *In* : KINTZ P., ed. *Toxicologie et pharmacologie médico-légales*. Elsevier, 1998 : 67-110.
6. GALLIOT-GUILLEY M., FOMPEYDIE D. Dosage des médicaments pour le diagnostic et la surveillance des intoxications aiguës. *Rev. Prat.* 1997, **47** : 721-725.
7. GOULLE JP., KINTZ P. Un nouveau moyen d'investigation biologique : l'analyse des cheveux. Intérêt en pratique médicale. *Rev. Méd. Interne*. Elsevier, Paris, 1996, **17** : 826-835.
8. JAEGER A., MANGIN P., SAUDER Ph., KOPFERSCHMITT J. Intérêt et limites de la recherche des toxiques en urgence. L'analyse toxicologique doit être ciblée par le clinicien. *Rev. Prat. Med. Gen.* 1991, **5** : 287-292.
9. JAEGER A., SAUDER Ph., KOPFERSCHMITT J. L'analyse toxicologique en urgence : indications, interprétation. *In* : *Actualité en Réa et Urgences*. Arnette, 1994 : 481-497.
10. KINTZ P., DUMESTRE-TOULET V. L'analyse toxicologique hospitalière. *In* : DANIEL V., BARRIOT P., ed. *Intoxications aiguës en réanimation*. Arnette, 2^{ème} édition, 1999 : 97-110.

11. LAPOSTOLLE F., BISMUTH C. Généralités. *In* : BISMUTH C., ed. Toxicologie clinique. Flammarion, 5^{ème} édition, 2000.
12. LAPOSTOLLE F., GOURLAIN H., ADNET F., LAPANDRY C. Identification des toxiques et dosages. *In* : Médecine d'urgence. 41^{ème} Congrès national d'anesthésie et de réanimation. Elsevier, Paris, 1999 : 67-79.
13. LHEUREUX P., ASKENASI R., MAES V. Du bon usage du laboratoire de toxicologie. 2^{ème} partie : utilité clinique et interprétation des résultats. *Réan. Urg.* 1996, **5** (3) : 341-352.
14. LHEUREUX P., MAES V. Indications et interprétation des analyses toxicologiques. *In* : JAEGER J., VALE J.-A. Intoxications aiguës. Elsevier, Paris, 1999 : 61-77.
15. LHEUREUX P., OLEFFE V. Apport du laboratoire et des analyses toxicologiques. *In* : Cours supérieurs d'urgence : Arnette, 1999 : 79-92.
16. MARTIN-HERRERA C., PICCO C. Un serveur hypermédia de toxicologie clinique : Paracelse. Diplôme d'état de docteur en médecine, Grenoble, 1995
17. PASCAL P., MOULSMA M., MIRAS A., et al. Bilan de deux ans d'expertise toxicologique réalisée pour l'institut de Médecine Légale de Lyon. *Toxicorama*, 1996, **8**, n°4 : 27-33.
18. PECHARD A., BESSON A.-S., MIALON A., BERNY C., MANCHON M. Analyse critique des différentes méthodes utilisées pour le dépistage toxicologique dans un laboratoire d'urgence. *Ann. Biol. Clin.* 1999, **57** : 525-537.
19. PROUDFOOT A., JONES A. Indices de gravité et critères pronostiques. *In* : Intoxications aiguës. Elsevier, Paris, 1999 : 78-95.
20. REPETTO MR., REPETTO M. Concentrations in human fluids : 101 drugs affecting the digestive system and metabolism. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* 1999, **37**(1) :1-8.
21. REPETTO MR., REPETTO M. Habitual, toxic, and lethal concentrations of 103 drugs of abuse in humans. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* 1997, **35**(1) :1-9.
22. REPETTO MR., REPETTO M. Therapeutic, toxic, and lethal concentrations of 73 drugs affecting respiratory system in human fluids. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* 1998, **36**(4) : 287-293.

23. REPETTO MR., REPETTO M. Therapeutic, toxic, and lethal concentrations in human fluids of 90 drugs affecting the cardiovascular and hematopoietic systems. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* 1997, 35(4) : 345-351.
24. ROUESSAC F., ROUESSAC A. Analyse chimique. Méthodes et techniques instrumentales modernes. Dunod, Paris, 4^{ème} édition, 1998.
25. SAVIUC P., HANNA J., DANIEL V. Epidémiologie des intoxications : plus de 2000 décès par an. *La revue du praticien.* 1999, 13 : 2054-2057.
26. SKOOG, WEST, HOLLER. Chimie analytique. 7^{ème} édition, 1997 : 557-724.
27. TABOULET P., AZOYAN P. Place des examens complémentaires dans la démarche thérapeutique de l'urgence toxicologique. *Réan. Soins intens. Méd. Urg.* 1994, 10 : 12-17.
28. TURCANT A., HARRY P. Analyse toxicologique : diagnostic analytique des intoxications. *In* : BAUD F., eds. Réanimation des intoxications aiguës. Masson, 1995 : 36-48.
29. VIAL A. Protocole type d'analyse toxicologique générale. *In* : Eléments de toxicologie. Lavoisier, 1998 : 171-182.
30. VIAL A. Critères de validité d'une méthode d'analyse. *In* : Eléments de toxicologie. Lavoisier, 1998 : 183-186.
31. VINCENT F., DANIEL V. Quelle collaboration clinico-biologique pour la prise en charge des intoxications aiguës ? *Annales de Toxicologie Analytique*, 2000, 12 : 267-273.
32. VOTTERO G. Drogues et stupéfiants sur Paracelse. Diplôme d'état de docteur en pharmacie, Grenoble, 1999.





Serment des Apothicaires

Je jure, en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.



