

Dosage des médicaments et des toxiques

L'avancée des techniques séparatives en toxicologie permet à présent d'identifier plus facilement la prise de drogue et de discriminer la consommation régulière de drogues ou de médicaments de la prise isolée et parfois délictuelle de substances dites toxiques.



D'après la présentation du Pr Jean-Claude Alvarez du CHU Paris Ile-de-France à Garches aux Journées de Biologie Clinique Necker-Pasteur.

Lorsque l'on dose un médicament de manière chronique, il se produit une augmentation progressive des concentrations dans le sang jusqu'à l'obtention d'un plateau d'équilibre. Ce plateau est obtenu au bout de cinq demi-vies. Il doit se situer dans la zone thérapeutique. « Au-dessus de cette zone, on parle de zone toxique, explique le Pr Alvarez, c'est-à-dire que le médicament peut entraîner des effets secondaires toxiques. En-dessous de cette zone thérapeutique, on se trouve dans la zone d'inefficacité où le médicament a toutes les chances d'être inefficace pour le patient. » Plus la zone thérapeutique est faible et étroite, plus la concentration du médicament est importante à surveiller pour éviter de passer en zone toxique ou en zone d'inefficacité. La zone thérapeutique est cette fourchette de concentrations dans laquelle la majorité des patients est bien traitée. Il y a l'effet thérapeutique voulu du médicament et relativement peu d'effet toxique. Cette zone thérapeutique est toujours définie pour des concentrations résiduelles donc le biologiste dose toujours un médicament juste avant la prise suivante, à l'exception des antibiotiques.

Il existe une variabilité interindividuelle de la relation dose-concentration en fonction des individus. C'est la variabilité pharmacocinétique. « Cela est dû à la modification d'un certain nombre de facteurs : la biodisponibilité (fraction du médicament qui arrive dans la circulation générale), la modification du volume de distribution, les modifications du métabolisme par différents facteurs (génétiques, pathologies...), ou les modifications de l'élimination du médicament. »



Pr Jean-Claude Alvarez du CHU Paris Ile-de-France à Garches aux Journées de Biologie Clinique Necker-Pasteur.



© Pacific Northwest National Laboratory - PNNL

Plus la zone thérapeutique est faible et étroite, plus la concentration du médicament sera importante à surveiller pour éviter de passer en zone toxique ou en zone d'inefficacité.

Les médicaments éligibles à la mesure des concentrations thérapeutiques dans le sang

C'est ce qu'on appelle le STP ou suivi thérapeutique pharmacologique. « Les antirétroviraux, certains antibiotiques comme les aminosides ou les glycopentides, les immunosuppresseurs, les antifongiques, les anti-convulsants nécessitent un suivi régulier », affirme le Pr Alvarez. Ce sont les classes pour lesquelles le STP se fait de manière généralisée. Mais le dosage de médicaments s'adresse aussi à d'autres situations : signes de toxicité, inefficacité du médicament ou vérification de la compliance à un traitement. Il y a également la possibilité de doser des toxiques comme les stupéfiants.

Les méthodes de dosage

Il y a deux types méthodes utilisables par le biologiste. Les méthodes de dosages immunochimiques utilisent un anticorps spécifique de la molécule à doser ou de la classe à rechercher en toxicologie. « L'avantage de ces méthodes est la rapidité. Elles sont automatisables et il n'y a pas de phase préliminaire d'extraction. » Le biologiste peut répondre à des demandes urgentes. La spécificité et la sensibilité de ces méthodes est acceptable d'un point de vue clinique, notamment pour répondre au diagnostic d'urgence d'une intoxication. Le coût de l'investissement est limité. Les



Émilie CLER
Journaliste scientifique



Il existe de méthode de dosage utilisables par les biologistes : les méthodes de dosages immunochimiques et les méthodes chromatographiques.

inconvenients de ces méthodes immunochimiques sont la spécificité et la sensibilité, dépendantes des kits commercialisés et de la classe recherchée. « Il y a des faux positifs, des faux négatifs, et ces techniques n'ont aucune valeur médico-légale », précise le Professeur. En ce qui concerne les recherches de classes, toutes les molécules ne sont pas toujours très bien reconnues par ces techniques, notamment les benzodiazépines. Le zolpidem et le zopiclone, qui sont des assimilés, ne sont jamais reconnus par ces méthodes de dépistage. Pour les amphétamines, certains kits existent mais sont dirigés contre les substances licites et pas contre les illicites (ecstasy). « Il faut donc se méfier. Les résultats peuvent être discordants en fonction des kits. » Les matrices utilisables avec ces méthodes immunochimiques sont essentiellement le sang pour tout ce qui est médicamenteux et les urines pour toutes les recherches de stupéfiants. Il existe cependant de nouvelles techniques de dépistage de drogues sur sérum, plasma, sang total même post-mortem et cheveux qui fonctionnent très bien. Les méthodes chromatographiques sont des techniques de séparation qui permettent d'analyser le mélange en individualisant les différents constituants de ce mélange (qui sera la matrice biologique, sang, urine, etc.). En fonction de la nature des composés, on réalise de la

chromatographie liquide ou gazeuse. Une fois les molécules séparées, on les quantifie par l'utilisation de détecteurs. « Le spectromètre de masse est le détecteur actuel qui a le vent en poupe. Il commence à se généraliser dans tous les laboratoires. » Ces techniques ont un avantage : elles permettent de doser le métabolite directement alors que les kits immunochimiques commerciaux dose davantage une molécule, mais rarement le métabolite actif. « Les méthodes chromatographiques sont applicables à toutes les molécules alors



« Les antirétroviraux, certains antibiotiques comme les aminosides ou les glycopentides, les immunosuppresseurs, les antifongiques, les anti-convulsants nécessitent un suivi régulier », affirme le Pr Alvarez.

greiner bio-one

Le manuel de prélèvement dématérialisé,

l'unique solution sur mesure pour répondre à la norme



- Mise à jour en temps réel de vos documents
- Envoi automatique d'email à vos utilisateurs
- Traçabilité des consultations
- Double stockage de vos données
- Personnalisation de vos contenus
- Personnalisation de la charte graphique
- Optimisation pour smartphone

Plus d'informations sur www.gbo.com/fr

Réalisation d'un prélèvement de cheveu

On prélève une mèche de l'épaisseur d'un crayon par classe de substances étudiée, permettant de doser 130 à 140 médicaments. La mèche est coupée au ras du cuir chevelu. Avec l'ancienneté, un mois en arrière représente 1 cm. C'est le seul prélèvement de pharmacotoxicologie qui ne se place ni au frigo ni au congélateur mais qui se conserve à température ambiante. Le traitement des cheveux se fait par décontamination externe, lavage et broyage. On réalise de la poudre à partir des cheveux et ensuite, on peut extraire. Les utilisations possibles de cette matrice sont les suivantes :

- usage chronique de drogue, infraction à la législation sur les stupéfiants.
- respect du code de la route. On peut faire une analyse de cheveu avant le rendu du permis et savoir si la personne a arrêté la prise de stupéfiant.
- dopage. Car les sportifs prennent la substance avant la compétition et non pas pendant. Les analyses urinaires pendant la compétition ne servent pas à grand-chose.
- usage chronique d'une drogue qui a entraîné un décès. Mais cela ne permet pas de déterminer la cause d'un décès instantané. Si la cause est due à une substance toxique, elle se trouve seulement dans le bulbe du cheveu.
- soumission chimique. L'administration à des fins criminelles à



© Aurelien Haas

l'insu de la victime de substances psycho-actives pour rendre la victime semi-consciente ou inconsciente et avoir un effet amnésique antérograde. Les plus utilisées sont les benzodiazépines et les

hypnotiques. « Ces molécules sont aussi prescrites en thérapeutique donc il faut savoir faire la différence. La seule technique de détection efficace est la LC/MS/MS. Aux urgences, lorsqu'on est sur un délai inférieur à 3 jours, il faut faire des prélèvements immédiats de sang, d'urine et d'une mèche de cheveu. Pour une soumission chimique, la substance n'a pas le temps d'intégrer le cheveu donc le test sera négatif. Lorsqu'on est sur des délais supérieurs à 3 jours, il y a peu de chances de retrouver

la substance dans le sang ou dans les urines, mieux vaut attendre quatre semaines et prélever en différé 3-4 mèches de cheveux afin d'identifier la molécule à des concentrations très faibles. »

En conclusion, la spectrométrie de masse a révolutionné la pharmacologie et la toxicologie. Les nouvelles matrices comme les cheveux ont modifié les champs d'utilisation de la discipline et permettent de déterminer les usages chroniques de drogues. Les spectromètres de masse haute résolution permettront dans les années à venir d'identifier la structure moléculaire des substances inconnues des bibliothèques.

que les kits commerciaux ne permettent de doser que la molécule que l'industriel a voulu mettre en valeur. » L'inconvénient ? Il y a trois étapes indispensables : la phase d'extraction de l'échantillon, la chromatographie parfois longue et la période de détection en spectrographie de masse. Ce sont des techniques longues, difficilement utilisables pour répondre aux urgences, le délai étant de 4h. De surcroît, elles nécessitent un équipement plus coûteux que l'immunochimie.

Les matrices biologiques

Les matrices classiques du sang et de l'urine restent les seules utilisables en immunochimie. Les matrices alternatives sont la salive et les cheveux. Elles peuvent être utilisées en chromatographie, comme les matrices non biologiques.

Le sang présente un avantage : la concentration de la substance dans le sang reflète l'imprégnation, qui est elle-même un facteur de gravité voire de pronostic. Deuxième avantage : ce prélèvement est quasi-systématique aux urgences, surtout pour la biochimie. L'inconvénient est que ce prélèvement est invasif, toutes les substances ingérées ne peuvent pas être dépistées, à l'instar des stupéfiants. Quant à la matrice urine, elle nécessite un prélèvement non invasif, ce qui permet de retrouver des toxiques pendant plus longtemps. Les dépistages urinaires sont validés pour les stupéfiants et il n'y a pas de prétraitement d'échantillon. « L'inconvénient, la quantité retrouvée ne préjuge pas de la gravité de l'intoxication. Attention à

ne jamais raisonner sur des concentrations urinaires. Le cannabis peut être positif dans les urines une à trois semaines après l'arrêt de la consommation. Il faut donc se méfier des délais de positivité en termes de stupéfiants et de cannabis. »

La matrice cheveux a l'avantage d'augmenter la durée de la fenêtre de détection d'une drogue ou d'un médicament. Après administration d'une drogue, celle-ci reste détectable dans le sang et dans la salive pendant quelques heures, dans l'urine pendant quelques jours (sauf le cannabis qui reste un peu plus longtemps), dans la sueur, une semaine, à condition de ne pas se laver. Dans les cheveux, c'est des semaines, des mois, voire des années. La substance administrée dans un organisme pénètre dans tous les organes et s'intègre dans le bulbe du cheveu. La trace dans la matrice cheveux s'introduit dans la kératine et reste au même endroit. En fonction de la vitesse de la pousse des cheveux, cette trace avance. Un mois après l'absorption de la substance, la trace se situe à 1 cm du bulbe. « Pour identifier une prise de médicament, on travaille sur des segments de 2 cm. On obtient des traces de substances de l'ordre du pg/mg. Si on ne recherche pas une prise unique mais un traitement, les traces du médicament intègrent l'ensemble du cheveu et les concentrations s'élèvent alors au nanogramme. L'avantage de cette matrice cheveu est qu'elle permet de mettre en évidence à la fois une exposition chronique à une drogue, mais aussi une exposition unique avec une forte sensibilité via la spectrométrie de masse. » Autres avantages, cette matrice ne nécessite pas un prélèvement invasif et le prélèvement peut se faire trois à cinq semaines après. ■