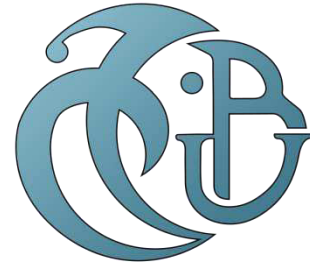


REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLAB - BLIDA 1 -



FACULTE DE MEDECINE.

DEPARTEMENT DE PHARMACIE.

Matrices alternatives en toxicologie :
Intérêt des cheveux dans l'analyse toxicologique

Mémoire de fin d'études

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Docteur en Pharmacie

Session : Septembre 2020.

Présenté par :

BACHSAISS Samia

BAHOUS Zineb

BENLEMDJALDI Saadia

Encadrée par :

Dr A. ZOUANI Maître assistante en Toxicologie.

Devant le jury :

Présidente : Mm. H. BENGUERGOURA Maître de conférence classe b.

Examineur : Dr k. MAMMERI Maître assistant en toxicologie.

Remerciements

Nous tenons d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force, le courage ainsi que la patience pour mener à terme ce modeste travail.

Avec une profonde reconnaissance et une considération particulière que nous adressons nos remerciements, à notre promotrice et encadreur Mm A. ZOUANI pour sa disponibilité et sa patience tout d'abord et pour les conseils qu'elle nous a prodigué. L'assistance et l'aide dont nous avons bénéficié ont été sans égale. Elle était une source constante de motivation et d'encouragement. Son œil critique nous a été très précieux pour structurer et achever ce travail.

Merci encore une fois ;

Nous sommes conscientes de l'honneur que nous a fait Mme. H. BENGUERGOURA en étant présidente du jury, Dr. K.MAMMERI d'avoir accepté d'examiner ce travail et de l'enrichir par ses propositions.

Notre remerciement s'adresse également à tous nos professeurs pour leurs générosités et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leurs charges académiques et professionnelles.

Nos profonds remerciements vont également à toutes les personnes qui nous ont aidés et soutenues de près ou de loin.



Nous vous remercions tous.

DÉDICACES

A ma chère mère

Mon amour, mon esprit et mon exemple. Que Dieu vous garde et vous bénisse

A mon cher mari

Qui m'a donné toujours de l'aide, du courage et de la tendresse

*A mon fils **Ziad** et ma fille **Djouri***

A mon beau-père et à ma belle mère

A tous mes frères et mes sœurs

*A toute ma famille **BENLEMDJALDI***

*A toute la famille **BENZAHRIR***

A tous mes amies

*A mes chères binômes : **SAMIA ET ZINEB**, Pour leurs*

ententes et leurs sympathies

JE VOUS DIS..... MERCI

SAADIA

DÉDICACES

A la source de tendresse, de patience, d'amour, de générosité

*A ma **maman** d'amour*

A mon pilier, mon exemple, mon repère et mon guide

A la personne qui était toujours là pour moi afin de me guider, et me suivre

*A mon model, a mon **papa** adoré*

Les deux personnes qui m'ont toujours su nous combler d'amour et de tendresse, aucune dédicace ne saurait exprimer mes sentiments, mon amour éternel, ma considération pour tous les sacrifices que vous avez consentit juste pour mon bien être et celui de mes frères et mes sœurs.

*A mon cher mari : **ABDELHAKIM**,*

Qui m'a aidé et supporté dans les moments difficiles

*A mon fils **MOKBEL***

*A ma **belle mère** et mon **beau-père***

*A mes frères **AHMED ET HAMZA** et mes sœurs : **ZAHRA ET RABIA***

*A mon beau-frère **Abderezak** et mes belle sœurs: **YASSMNA, IMENE ET NAIMA***

*A mes belles grandes mères **AICHA** et **ZOHRA**.*

*Une dédicace spéciale pour mes chère professeurs **IMANE ET ZAHRA** vous étiez là pour moi depuis le début, je n'oublierai jamais vos encouragements*

*A mes chères binômes: **SAMIA ET SAADIA**, Pour ses ententes et ses sympathies*

A toute ma famille,

A tous mes amies,

A tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment.

JE VOUS DIS..... MERCI

ZINEB

Dédicace :

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

*Particulièrement à mon très cher **papa**,*

Tu as été toujours à mes côtés me soutenir et me confort que ce travail traduit ma gratitude et mon affection

*A la plus douce chaleureuse et belle **maman**,*

Mama tu n'as jamais cessé de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre à mes objectifs.

*A ma sœur « **Amina** » une part de mon cœur qui était là pour moi et qui a partagé avec moi les moments les plus précieux de ma vie*

*A mes deux petits frères « **Abdelhadi** » et « **Mohamed** » mon trésor ma source de joie dans les jours difficiles*

*Aux plus pures âmes de ma vie, les plus belles et uniques amies, qui croient en moi quand je ne l'ai pas fait : **Safaa et Dalila***

*Aux plus charmantes, douces cousines : **Dalal, Wafaa, Noura et Mahdia***

*A la famille : « **Bachsaiss** » et « **Serir** » sans exception.*

*A mon binôme : la forte « **Zineb** », j'ai le plaisir de t'avoir comme amie et ma chère « **Saadia** ».*

SAMIA

TABLE DES MATIERES

Liste des figures :.....	I
Liste des tableaux	II
Abréviations :.....	III
Introduction générale.....	I

Chapitre I : Matrices biologiques conventionnelles

I- Définition de l'analyse toxicologique	4
II- Intérêt de l'analyse toxicologique :	4
1- En toxicologie clinique.	
2- En toxicologie professionnelle.	
3- En toxicologie médico-légale.	
III- Etude des matrices biologiques conventionnelles :	7
1- Sang périphérique :	7
a- Physiologie.....	7
b- Absorption et distribution des xénobiotiques dans le sang.....	7
c- Stabilité des drogues.....	9
d- Modalités de prélèvement.....	10
e- Conditions de conservation.....	12
2- Sang cardiaque :	
a- Physiologie	13
b- Absorption et distribution des xénobiotiques dans le sang.....	13
c- Stabilité des drogues.....	14
d- Modalités de prélèvement.....	14
e- Conditions de conservation.....	15
3- Urines :	
a- Physiologie	15

b-	<i>Elimination des xénobiotiques dans les urines.</i>	16
c-	<i>Facteurs modifiants l'excrétion urinaire.</i>	17
d-	<i>Facteurs modifiants la miction.</i>	17
e-	<i>Fenêtre de détection des xénobiotiques.</i>	18
f-	<i>Modalités de prélèvements.</i>	19
g-	<i>Conditions de conservation.</i>	20
4-	<i>Contenu gastrique :</i>	21
a-	<i>Composition.</i>	21
b-	<i>Elimination des drogues dans le tubedigestif.</i>	22
c-	<i>Modalités de prélèvements.</i>	24
d-	<i>Conditions de conservation.</i>	24
5-	<i>Bile :</i>	24
a-	<i>Composition.</i>	24
b-	<i>Elimination des drogues dans la bile.</i>	25
c-	<i>Modalités de prélèvements.</i>	25
d-	<i>Conditions de conservation.</i>	26
6-	<i>Viscères :</i>	26
a-	<i>Distribution des xénobiotiques dans les viscères.</i>	26
b-	<i>Principaux organes utilisés dans l'analyse toxicologique :</i>	27
b-1-	<i>Modalités de prélèvements.</i>	27
b-2-	<i>Conditions de conservation.</i>	28
	<i>IV- Avantages et inconvénients des matrices biologiques conventionnelles.</i>	28

Chapitre II : Matrices biologiques alternatives

I-	<i>Définition.</i>	34
II-	<i>Classification :</i>	34
1-	<i>Selon l'état du patient.</i>	34
2-	<i>Selon la pratique de l'expertise médico-légale.</i>	35

3-	<i>Selon les domaines d'application.</i>	36
4-	<i>Selon les constituants biologiques et l'origine physiologique :</i>	36
a-	<i>Phanères : cheveux et ongles</i>	
b-	<i>Air expiré</i>	
c-	<i>Matrices d'origine maternelle : liquide amniotique, le méconium et le lait maternel.</i>	
d-	<i>Secrétions glandulaires : salive, sueur et larmes.</i>	
e-	<i>Humeur vitrée.</i>	
f-	<i>Autres : dents, prélèvements nasopharyngés.</i>	
III-	<i>Mode d'incorporation des xénobiotiques dans les matrices biologiques alternatives</i>	36
IV-	<i>Intérêt des matrices alternatives en toxicologie.....</i>	39
V-	<i>Etudes des matrices biologiques alternatives :</i>	44
	1- Phanères :	
	<i>cheveux</i>	<i>44</i>
	a- <i>Physiologie.....</i>	<i>44</i>
	b- <i>Modalités de prélèvements.....</i>	<i>45</i>
	<i>Ongles</i>	<i>45</i>
	a- <i>Physiologie.....</i>	<i>45</i>
	b- <i>Modalités de prélèvements.....</i>	<i>46</i>
	2- Air expiré :	46
	a- <i>Physiologie.....</i>	<i>46</i>
	b- <i>Modalités de prélèvements.....</i>	<i>46</i>
	3- Matrices d'origine maternelle :	47
	1- <i>Liquide amniotique.....</i>	<i>47</i>
	a- <i>Physiologie.....</i>	<i>47</i>
	b- <i>Modalités de prélèvements.....</i>	<i>48</i>
	2- <i>Lait maternel :</i>	<i>48</i>
	a- <i>Physiologie.....</i>	<i>48</i>
	c- <i>Modalités de prélèvements</i>	<i>49</i>

3- Le méconium	49
a- Physiologie.....	49
b- Modalités de prélèvements.....	49
4 - Secrétions glandulaires :	
1- Salive.....	50
a- Physiologie.....	50
b- Modalités de prélèvements.....	50
2- Sueur.....	50
a- Physiologie.....	50
b- Modalités de prélèvements.....	51
3- Larmes.	51
a-physiologie.....	51
b-modalités de prélèvements.....	52
5-Humeur vitrée :	52
a- Physiologie.....	52
b- Modalités de prélèvements.....	53

VI-Critères pour le choix d'un milieu alternatif :53

VII-Milieus alternatifs en post mortem :55

1- Mécanisme de redistribution des xénobiotiques en post mortem.....	56
2- Conséquences de la redistribution post mortem pour l'interprétation des résultats.....	59
3- Milieux alternatif et redistribution post-mortem :.....	60

Chapitre III : Intérêt des cheveux dans l'analyse toxicologique

I- Généralités : sur les cheveux :

1- Anatomie et physiologie.....	61
2- Classification des types de cheveux.....	63
3- Taux de croissance des cheveux.....	64
4- Couleur des cheveux	66

II-Incorporation des xénobiotiques dans les cheveux :

1- Mécanisme d'incorporation des xénobiotiques dans les cheveux :.....	67
a- A partir de la circulation sanguine, sébum et la sueur.....	68
b- Incorporation par contamination externe.....	68
2- Relation dose –réponse.....	69
3- Liaison de mélanine.....	70
4- Stabilité des drogues dans les cheveux.....	71
III- <u>Analyse toxicologique des cheveux :</u>	
1- Contexte et objectifs de l'analyse.....	72
2- Types de substances recherchées et dosées dans les cheveux.....	72
3- PROTOCOLES DE COLLECTE D'ÉCHANTILLONS :.....	73
a- Procédure de collection et méthodes de prélèvement.....	74
b- Conditions de recueil, de conservation et d'envoi d'échantillons.....	75
4- Méthodes d'analyse :.....	75
a- Préparation des échantillons :.....	75
a-1- segmentation.....	75
a-2- lavage.....	76
a-3- obtention d'un échantillon représentatif.....	76
b- Extraction des toxiques :.....	77
b-1- hydrolyse de la matrice.....	77
b-2- incubation dans un solvant.....	78
c- Stratégie de dépistage et de dosage des xénobiotiques :.....	78
c-1- méthodes immunologiques :.....	78
c-1-1- principe.....	79
c-1-2- avantages et inconvénients.....	79
c-2- méthodes chromatographiques :.....	79
c-2-1- La chromatographie en phase gazeuse.....	80

c-2-2- La chromatographie en phase liquide.....	81
c-3- spectrophotométrie d'absorption atomique :	82
c-3-1- principe.....	82
c-3-2- avantages et inconvénients.....	83
c-4-spectrométrie de masse couplée à une torche à plasma (ICP-MS)....	83
c-4-1- principe.....	83
c-4-2- avantages et inconvénients.....	84
5- Interprétation des résultats.....	84

IV- Domaines d'applications de l'analyse toxicologique des cheveux :

1-Intérêt en toxicologie clinique :

a- Diagnostic des intoxications médicamenteuses et conduite toxicophiles :	85
a-1- intoxications médicamenteuses.....	85
a-2- conduites toxicophiles.....	86
b- Analyse des cheveux en santé maternelle néonatale et infantile :	
b-1- troubles du spectre de l'alcoolisation fœtale.....	88
b-2- syndrome d'abstinence néonatale.....	89
b-3- Mesure des drogues d'abus dans les cheveux néonatales.....	90
b-4- risques sociaux infantiles.....	91
c- Cheveux et surveillance thérapeutiques :.....	92

2-Intérêt en milieu professionnel :

a- Dépistage des drogues en milieu de travail.....	94
b- Surveillance biologique de l'exposition professionnelle.....	95

3-Intérêt en toxicologie médico-légale :

a- Déterminer les causes de décès.....	96
b- Soumission chimique.....	97

4-Intérêt dans la surveillance de l'addiction :

<i>a-toxicomanie.....</i>	<i>97</i>
<i>b-tabagisme.....</i>	<i>100</i>
<i>c-biomarqueurs alcooliques dans les cheveux.....</i>	<i>101</i>
5-Intérêt dans la biosurveillance de l'exposition humaine aux polluants.....	102
6-Intérêt dans le contrôle antidopage.....	103

V- Nouveaux défis et perspectives :

1- Facteurs de conditionnement et sources de variabilité :.....	104
<i>a. agents physiques et chimiques.....</i>	<i>104</i>
<i>b. Interactions entre les constituants des cheveux et les substances incorporées.....</i>	<i>105</i>
<i>c- Distribution des xénobiotiques dans les cheveux.....</i>	<i>105</i>
<i>d- Facteurs individuels.....</i>	<i>106</i>
2- Technologies innovantes et développement des instruments :.....	107
<i>a- Analyse toxicologique à large spectre.....</i>	<i>107</i>
<i>b- Enquête très exigeante.....</i>	<i>108</i>
<i>c- Disponibilité des cheveux de minute et analyse de cheveux unique.....</i>	<i>108</i>

Chapitre IV : Exemples de certaines applications de l'analyse toxicologique dans les cheveux

<i>Cas n°1.....</i>	<i>110</i>
<i>Cas n°2.....</i>	<i>113</i>
<i>Cas n°3.....</i>	<i>115</i>
<i>Cas n°4.....</i>	<i>117</i>
Conclusion.....	120
Références bibliographiques.....	121

LISTE DES TABLEAUX

<u>Tableau n° 1 :</u> Effets d'une exposition au plomb sur la santé en fonction de la plombémie. 6	6
<u>Tableau n° 2 :</u> Conditions de conservation du prélèvement sanguin selon le contexte de l'analyse toxicologique à effectuer.	12
<u>Tableau n° 3 :</u> Conditions de conservation des urines selon le contexte de l'analyse toxicologique.	20
<u>Tableau n° 4 :</u> Prélèvement d'organes en post-mortem.	28
<u>Tableau n° 5 :</u> Comparaison des durées d'effet et des fenêtres de détection des drogues entre les urines et la salive.	54
<u>Tableau n° 6 :</u> Teneur en mélanine dans les cheveux de sujets caucasiens.....	67
<u>Tableau n° 7 :</u> Intérêt de l'analyse des cheveux par rapport à l'urine dans le suivi des conduites toxicophiles.....	88
<u>Tableau n° 8 :</u> Applications de l'analyse des cheveux à la surveillance thérapeutique.	92
<u>Tableau n° 9 :</u> Variété des applications du dépistage de drogues grâce à l'utilisation de différentes matrices biologiques sur le lieu de travail, en soulignant où le dépistage de cheveux donne un avantage.....	95
<u>Tableau n° 10 :</u> Résultats de l'enquête 1 et 2	111
<u>Tableau n° 11 :</u> résultats de l'analyse des cheveux de l'athlète pour les concentrations de l'HCT	112
<u>Tableau12 :</u> Présentation des postes de travail et de la population de l'étude.....	113
<u>Tableau 13 :</u> Répartition des taux du chrome urinaire et capillaire.....	114
<u>Tableau 14 :</u> résultats de l'analyse segmentaire des cheveux de sujet par GC-MS et LC-MS/MS.....	118

LISTE DES FIGURES

<u>Figure 1:</u> Coupe transversale à travers les follicules capillaires.....	62
<u>Figure2:</u> Le cycle de croissance des cheveux.....	63
<u>Figure 3:</u> les mécanismes possibles d'incorporation des xénobiotiques dans les cheveux. ...	68
<u>Figure 4:</u> Procédures de collecte et d'entreposage des cheveux selon la Society of Hair Testing et les lignes directrices proposées précédemment.....	75
<u>Figure 5:</u> méthodes immunologiques utilisées dans le dépistage et le dosage des xénobiotiques : lecteur de microplaques ELISA.	79
<u>Figure 6:</u> méthodes chromatographiques : chromatographie gazeuse bidimensionnelle.....	80
<u>Figure 7:</u> Principe de la chromatographie en phase liquide à haute performance.....	81
<u>Figure 8:</u> appareil de spectrophotométrie d'absorption atomique (SAA).....	82
<u>Figure 9:</u> principe de la spectrométrie de masse couplée à une torche à plasma.....	83

ABREVIATIONS

A

ADME : A : pour absorption, D : distribution, M : métabolisme ou biotransformation et E : pour élimination.

AEME : l'anhydroecgoninéméthylester

ALAU : Acide aminolevulinique urinaire

AMA: L'agence mondiale antidopage

ASST : l'Administration de la santé et de la sécurité au travail

ATP : Adénosine triphosphate.

B

BHE : Barrière Hémato-Encéphalique

BRB : barrière hémato-rétinienne

BZE : La benzoylecgonine

C

°C : degré Celsius

CBD : le cannabidiol

CBN : le cannabinoïde

Cd : Cadmium

CG 2D ou CG × CG : chromatographie en phase gazeuse bidimensionnelle

CG : Chromatographie en phase gazeuse

CG-SM : La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

CLHP : La chromatographie en phase liquide Haute Performances

cm : centimètre

Cr: Chrome

D

Da : dalton

DFC : Les crimes facilités par la drogue.

E

EBC : le condensat d'exhalatedbreath.

EDDP : 2-éthylidine-1,5-diméthyl-3,3 diphénylpyrrolidine.

EDTA : l'acide éthylène diamine tétra acétique

EEAG : l'ester éthylique d'acide gras.

EGF: Epidermal growth factor

ELISA:Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay

EMIT: Enzyme-Multiplied Immunoassay Technique.

EtG : l'éthylglucuronide

F

fg :femtogramme

G

g: gramme

GHB : gamma-hydroxy butyrate

GBL : gamma-butyrolactone

GRE : gaine radiculaire externe

GRI : gaine radiculaire interne

g-GT : gamma glutamyle transférase

H

H : heure

HAPs : les hydrocarbures aromatiques polycycliques.

HCl : Chlorure d'Hydrogène.

HCT : L'hydrochlorthiazide

HV: L'humeur vitrée

I

ICP : Inductively Coupled Plasma

ICP-MS (Spectrométrie de Masse Couplée à une Torche à Plasma

IGF: Insulin growth factor

INSST : Institut National de le Sécurité et de la Santé au

L

L : litre

LCD : Lysergic acid diéthylamide

LC-MS/MS : La chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse

LOD : Limites de détection

M

MA : Méthamphétamine

6_MAM : 6 -monoacétyl morphine

MDA : MethyleneDioxyAmphetamine

MDEA : 3,4-Methylenedioxy-N-Ethylamphetamine

MDMA : 3,4-Methylenedioxymethamphetamine

mg : milligramme

ml : millilitre

mm : millimètre

mmol : milli mole

mn : minute

mOsm : milli osmole

MPE : Micro pulvérisée

MS/MS : Spectrométrie de masse en tandem.

N

NA : Norandrostérone

Na F : fluorure de sodium

NAS : syndrome d'abstinence néonatale

ng : nano gramme

O

OH-HAPs : l'hydrocarbure aromatique polycyclique hydroxylé

11-OH THC : 11-Hydroxy- Δ 9-tetrahydrocannabinol

ORL : otorhinolaryngologie

P

PCP : phenecyclidine.

PET : polyéthylène téréphtalate

PH : Potentiel hydrogène

pg : picogramme.

PGE2 : Prostaglandine

PKa : constante d'acidité ou de dissociation

PM : poids moléculaire

PO : Polluant organique

R

RIA : Radio Immuno Assay

S

SA : Semaine d'aménorrhée

SAA : Spectrophotométrie d'absorption atomique

SOHT: La society of hair testing

T

T1/2 : temps de demi-vie

THC : tetrahydrocannabinol

THC-COOH : l'acide 11-nor-9-THC carboxylique/11-nor-9-carboxy- Δ 9 –
tétrahydrocannabinol

9-THC : 9-tétrahydrocannabinol

TSAF : trouble du spectre de l'alcoolisation fœtale

U

UV : Ultraviolet

UV-Vis: Spectre UV-Visible

V

VGM : volume globulaire moyen.

μ

μg : microgramme

μL : microlitre.

INTRODUCTION :

L'analyse toxicologique est basée sur la détection, la mesure et l'identification de la nature exacte des molécules responsables d'une intoxication qui conduit à une cascade de complications voir même le décès (Curtis D. Klaassen et Jhon B. Watkins, 2015).

Cette recherche nécessite la réalisation de prélèvements biologiques classiques dits « conventionnelles » qui s'avèrent extrêmement riche d'informations et fournissent souvent des résultats fiables tel le prélèvement sanguin : milieu de base qui permet une quantification des toxiques et donc estimer le degré d'imprégnation de l'organisme, le prélèvement urinaire : c'est une matrice idéale pour le dépistage des drogues, le contenu gastrique, la bile et les viscères. Les matrices conventionnelles restent toujours les prélèvements de base à effectuer, cependant, elles ne sont pas toujours disponibles, leur durée de détection peut être limitée et elles sont soumises à l'effet de la redistribution post mortem. (P. Kintz, 2012)

Dans différentes situations le recours à l'analyse de matrices alternatives au sang s'impose. Les différents tissus et fluides du corps peuvent être utilisés comme matrices alternatives mais ils se distinguent par des intérêts variés, ainsi les cheveux sont un milieu intéressant pour caractériser un usage chronique de substances. (F. Bévalot, 2014)

Au cours des dernières décennies, la littérature scientifique s'étend vers la détection des drogues d'abus et de leurs métabolites dans les cheveux. Cette matrice montre une grande fenêtre de détection, le prélèvement est particulièrement non invasif, et contrairement aux autres matrices l'analyse capillaire permet la distinction entre une exposition chronique d'une prise unique.

L'intérêt de l'analyse toxicologique des cheveux s'avère de plus en plus important. Elle est appliquée dans différents domaines, en toxicologie clinique et hospitalière, en milieu professionnels : le dépistage des drogues ou pour évaluer l'exposition accidentelle aux substances chimiques, en toxicologie médico-légale : crime, identification de cadavre, cause de décès soumission chimique et pour la surveillance de l'addiction. (P. Kintz, 2015)

En dépit de l'évolution connue dans le monde entier en ce qui concerne l'analyse toxicologique des cheveux par l'utilisation d'un matériel de pointe doté des méthodes de détections spécifiques permettant aujourd'hui le dosage de différents toxiques avec une sensibilité, une précision et une fiabilité remarquable, l'emploi de cette matrice en Algérie reste toujours très restreint. D'une part par manque de réactifs, produits chimiques, dispositifs

et équipements permettant ainsi d'effectuer les protocoles impliqués dans les différentes méthodes analytiques. D'autre part, le manque de connaissance de la matrice cheveux : protocole de prélèvement, traitement de l'échantillon, techniques d'extraction et de dosages, méthodes d'analyse appropriées, discussion et interprétation des résultats.

A la lumière de tout ce qui précède et pour être dans le cœur de l'actualité scientifique nous avons mené ce travail de mémoire de fin d'études en pharmacie dont l'objectif principal est basé sur la réalisation d'une base de données riches et récentes pour répondre aux questions suivantes :

« *Quels sont les avantages des matrices alternatives en toxicologie par rapport aux autres matrices conventionnelles ?* » Et plus particulièrement « *Quel est l'intérêt des cheveux dans l'analyse toxicologique ?* » En vue de faire mieux connaître ces matrices par les analystes.

En fait, il s'agit d'une revue bibliographique actualisée à travers laquelle nous voulions mettre le point sur l'intérêt majeur des milieux alternatifs dans l'analyse toxicologique, surtout les cheveux, en présentant leurs avantages comparés aux matrices conventionnelles, et leur large éventail de domaines d'application ainsi que les nouveaux défis et perspectives. A cette fin nous avons présenté notre travail en quatre chapitres à savoir :

Chapitre 1 : Il traite les matrices biologiques conventionnelles, nous avons d'abord commencé par définir l'analyse toxicologique et son intérêt en toxicologie clinique, professionnelle et médico-légale. Puis, nous avons étudié les différentes matrices en se basant sur l'étude physiologique, la cinétique des xénobiotiques, la stabilité des drogues, les modalités de prélèvement et leurs conditions de conservation. Et enfin nous avons parlé des avantages et inconvénients de ces matrices.

Chapitre 2 : Il traite les matrices biologiques alternatives. Dans ce chapitre nous avons d'abord donné la définition et la classification des matrices alternatives, le mode d'incorporation des xénobiotiques dans ces matrices et leurs intérêts. Pour arriver vers l'étude physiologique et les modalités de prélèvements. Puis, nous avons mis l'accent sur les critères pour le choix d'un milieu alternatif approprié et les milieux alternatifs en post mortem.

Chapitre 3 : Dans lequel nous avons développé l'intérêt des cheveux dans l'analyse toxicologique.

Dans ce chapitre, nous avons d'abord rappelé l'anatomie et la physiologie des cheveux pour arriver au mode d'incorporation des drogues, leur stabilité et leur cinétique au sein de ce

milieu. Après, nous avons traité les analyses toxicologiques des cheveux : objectifs, prélèvements, décontamination extraction, analyse et interprétation des résultats. Puis, nous avons détaillé l'intérêt de l'analyse toxicologique et les différents domaines d'applications. Pour conclure, nous avons parlé des nouveaux défis et perspectives.

Chapitre 4 : exemples de certaines applications de l'analyse toxicologique dans les cheveux
Nous avons cité dans ce chapitre 4 cas où l'analyse toxicologique des cheveux était la référence et le choix idéal pour résoudre les situations.

I-Définition de l'analyse toxicologique :

a- Définition de la toxicologie :

Le terme toxicologie vient du grec « toxicon » qui signifie « poison » et « logos » qui veut dire étude. La toxicologie n'était devenue réellement une discipline scientifique qu'au début du 18^e siècle et principalement au 19^e siècle. C'est une science multidisciplinaire, elle est en relation avec la chimie, la physiopathologie, la pharmacocinétique, la pharmacologie, la médecine...etc.(A. Bensakhria, 2018). La toxicologie implique l'étude des effets nocifs des agents physiques ou chimiques sur les organismes vivants. Elle s'intéresse d'abord à l'origine des toxiques et des intoxications, à l'étude des propriétés physico-chimiques des xénobiotiques, la voie ou les voies d'exposition à ces poisons ainsi que les facteurs qui influencent leur toxicité c'est-à-dire étudier la variabilité de réponse en fonction de l'espèce, de l'âge, du sexe et de l'environnement. La toxicologie étudie, également, la cinétique (toxicocinétique) des poisons dans l'organisme, les effets néfastes engendrés sur un organisme ou un ensemble d'organismes vivants cibles ou encore sur l'environnement (ecotoxicologie). Elle s'intéresse aussi à l'étude des mécanismes moléculaires de toxicité, les méthodes du diagnostic des intoxications et de détection des toxiques (qualitative et quantitative), les méthodes de prévention et de traitement des intoxications et enfin les méthodes de surveillance médicale (toxicovigilance).(S. Ben Youssef, 2017).

b-L 'analyse toxicologique :

L'analyse toxicologique est basée sur la recherche de l'identité du toxique (B. Capolaghi, 2000). On inclut, également, parmi les indicateurs d'exposition certains marqueurs d'effets précoces tels que la variation de la protoporphyrine zinc érythrocytaire en cas de saturnisme, de même les adduits à l'ADN ou aux protéines (albumine, hémoglobine) reflètent la dose biologiquement active et témoignent de l'imprégnation de l'organisme par des génotoxiques (C.Nisse, 2012).

Il est plus important de connaître la glycémie que la concentration d'éthanol en cas d'intoxication alcoolique, ou le pH par rapport à l'éthylène glycol chez un patient ayant ingéré une solution de glycol. En fait, l'évaluation de la fonction des organes impliqués dans le métabolisme et l'excrétion des toxiques est primordial, ainsi que l'utilisation des critères indirects de toxicité comme le taux de prothrombine pour le suivi des anti vitamine K ou la

cholinestérase pour les organophosphorés, ensuite il faut suivre ces étapes prioritaires par une approche toxicologique pour caractériser et/ou doser le toxique lui même ou ses métabolites.

La recherche du toxique responsable de l'intoxication comprend la réalisation de prélèvements biologique dès l'administration du malade avec une quantité suffisante d'échantillon qui sera utilisé à posteriori pour l'identification exacte du produit ou une compréhension plus fine de l'intoxication. La demande de l'analyse toxicologique doit être clairement formulée, précisant les toxiques suspectés et la nature des liquides biologiques (sang, urine, liquide gastrique...etc.) auxquels ces analyses sont appliquées et leurs délais de réalisation (B. Capolaghi, 2000)

II- Intérêt de l'analyse toxicologique :

1 /En toxicologie clinique :

Dans le cadre de la toxicologie clinique, l'analyse toxicologique représente une démarche diagnostique, en effet elle aide les cliniciens dans l'interprétation des signes cliniques et rassure leur décision (F.Lapostole) car elle permet de confirmer ou exclure la présence d'une intoxication (G. Deslandes, 2014), par l'identification du toxique et détermine aussi sa cinétique (F.Lapostole). Elle améliore également les connaissances dans le domaine de la toxicologie et la corrélation clinico-biologique. (G. Deslandes, 2014).

La toxicologie analytique aide les cliniciens à évaluer la gravité de l'intoxication (G. Deslandes, 2014) et le pronostic de celle-ci et guide le traitement dans le cas d'une intoxication avérée (P. Compagnon, 2006) en justifiant la décision d'appliquer telle ou telle forme de traitement et permet aussi de surveiller l'efficacité de ce traitement ainsi elle est indispensable pour optimiser les traitements antidotiques et épurateurs (G. Deslandes, 2014).

2/En toxicologie médico-légale : (P. Kintz, 2012)

Dans le cadre de la toxicologie médico-légale, la toxicologie analytique joue un rôle très important dans la détermination des causes de décès grâce à l'identification et la quantification des éventuelles substances exogènes présentes chez le sujet décédé. Elle détermine si les concentrations mesurées du médicament sont des doses thérapeutiques ou des doses toxiques.

Elle permet également de déterminer le délai entre la dernière prise et le décès, la voie d'administration du toxique et la caractérisation d'un empoisonnement ou une soumission

chimique. Elle évalue la fréquence de l'exposition à la substance toxique identifiée c'est-à-dire prise unique ; fréquente ou chronique et détermine si l'intoxication est la cause de la mort ainsi que les circonstances de la mort dont le diagnostic est à priori connu. Aussi en cas de suicide, surdosage dans le contexte d'une toxicomanie, empoisonnement criminel, l'analyse toxicologique du sang prélevé sur le cadavre reste indispensable. (A.-L. Lacroix et coll, 2010)

3/En toxicologie professionnelle :

Dans le cadre de la toxicologie professionnelle, l'analyse toxicologique permet de déterminer les dangers des substances produites par l'industrie chimique (A. Lombard, 2015) et l'importance du risque sur la santé (N. Margossian, 2006). Elle constitue un outil indispensable pour la surveillance et la protection de la santé des travailleurs (C Nisse, 2017)(Tableau 1).

Tableau 1: Effets d'une exposition au plomb sur la santé en fonction de la plombémie (H. Nouaigui, 2009); (INRS, 2020)

Plombémie en µg/l	<100	200	300à400	500	1000	>1000
Effet sur la santé	Non exposé Protoporphirines zinc (PPZ) <3µg/l -Acide aminolevulinique urinaire (ALAU)<5µg/l	Augmentation des PPZ	Augmentation des ALAU	Diminution de synthèse d'hémoglobine PPZ=20µg/l ALAU=20µg/l	Anémie sévère	Colique de plomb

La surveillance biotoxicologique des travailleurs exposés à des substances toxiques permet de conclure sur l'importance des risques existants (N. Margossian, 2006), estimer l'importance d'un accident chimique et évaluer l'exposition chez la femme enceinte (A.Nicolas, 2004). Elle prend en compte toutes les voies d'absorption de la substance chimique considérée en se basant également sur la détermination des différentes sources d'exposition professionnelle (C Nisse, 2017). Elle permet de déterminer les valeurs

d'exposition de référence issues des études toxicologiques (A. Lombard, 2015), de montrer la nécessité de définir des mesures de prévention et de protection grâce à la caractérisation des expositions et des conditions de travail. (A. Lombard, 2015); (C. Marechal, 2004).

III-Etude des matrices biologiques conventionnelles :

Le sang est considéré comme la matrice biologique la plus importante en toxicologie post mortem en vue de l'existence d'une relation concentration sanguine-effet (V. DI Fazio, 2011). Le sang total, plasma ou sérum est le seul type d'échantillon permettant des résultats quantitatifs dont le degré d'intoxication peut être estimé. C'est le milieu de référence pour identifier l'alcoolémie et d'autres composants volatils. (B. Bergeret coll, 1997). A cause de praticabilité, d'intégrité et de standardisation, les prélèvements sanguins et urinaires représentent la majorité des analyses des métaux et métalloïdes. (L. Labat, 2010)

En médecine légale, le sang se réduit constamment en liquide hématique. C'est évidemment le milieu de base pour la recherche des causes toxiques de la mort en dépit de sa grande complexité qui rend difficile l'extraction des xénobiotiques. (G. Pépin et coll ; 1998). La majorité des tests comme la recherche de drogues et de médicaments sont effectués sur le sérum. (B. Bergeret coll, 1997). Le sang constitue le milieu de choix à analyser dans le cadre de la prise en charge d'une intoxication grave. (P. Compagnon et coll, 2006)

1-Sang périphérique ;

a- Physiologie :

C'est un fluide complexe (lipides, protéines, métaux, débris cellulaires...etc.) avec un PH= 7,4. Composé de 45% de cellules et 55% de plasma (G. Biswas, 2015). Le sang périphérique est prélevé à partir du site intra-iliaque, fémoral ou orbital sous clavier (G. Pépin et coll ; 1998), c'est un prélèvement très invasif avec un délai de détection de quelques jours voir quelques heures. (V. DI Fazio et M. Gosselin, 2011)

b- Absorption et distribution des xénobiotiques dans le sang :

Le devenir des xénobiotiques dans l'organisme est représenté par le système « ADME » : A : pour absorption, D : pour distribution, M : pour métabolisme ou biotransformation et E : pour élimination. (P. Kintz, 2012)

Ainsi de suite, nous détaillons les étapes d'absorption et de distribution qui nécessitent le franchissement de barrières physiologiques par le xénobiotique. (P. Kintz, 2012)

L'absorption des xénobiotiques se fait souvent via le tractus gastro-intestinal (administration orale, rectale), via la peau (contact direct), via les poumons (inhalation), via les muqueuses nasales (sniffer) ou injectés directement dans la circulation sanguine (injection intraveineuse).

Après absorption, la distribution des xénobiotiques vers les différents organes se passe à travers la circulation sanguine, pour y exercer son effet. (V. DI Fazio et M. Gosselin, 2011)

b-1- Absorption et résorption des xénobiotiques :

L'absorption : L'absorption est décrite comme étant le passage des xénobiotiques depuis son site d'administration jusqu'au compartiment central. En pratique physiologique, on considère que le compartiment central est le sang puisqu'il assure les échanges avec tous les organes. (P.Kintz, 2012 ; HP. Rang et coll, 2016)

La résorption : La résorption est impliquée avec toutes les voies d'administration (voie orale, cutanée, sous cutanée, pulmonaire, rectale ...), sauf la voie intraveineuse où le principe actif est directement introduit dans la circulation sanguine. (P.Kintz, 2012 ; HP. Rang et coll, 2016)

En fonction des caractéristiques de la membrane ou des couches cellulaires à traverser le transfert des xénobiotiques peut être :

- **Transfert passif :** la substance traverse librement les membranes lipidiques selon le sens du gradient de concentration.
- **Diffusion facilitée :** par l'intermédiaire de transporteurs (Saturable, compétitif)
- **Transfert actif :** se fait par le biais des transporteurs membranaires spécifiques. (Saturable, compétitif, consommateur d'ATP) contre le sens du gradient de concentration. (P.Kintz, 2012 ; HP. Rang et coll, 2016)

b-2-Distribution des xénobiotiques :

Après son entrée dans la circulation générale, le xénobiotique va être distribué dans les tissus de l'organisme. La distribution est usuellement inégale compte tenu du fait de différences en termes de débit sanguin irrigant les tissus, de fixation tissulaire, du pH local et de la perméabilité des membranes cellulaires. (P.Kintz, 2012 ; HP. Rang et coll, 2016)

Dans le plasma il y a des protéines circulantes pouvant fixer les xénobiotiques tels : l'albumine, les glycoprotéines, lipoprotéines, gammaglobulines...etc. Le pourcentage de fixation peut varier de 0% à 99,99%, ce phénomène est saturable et soumis à la compétition. Par conséquent, les xénobiotiques circulent dans le plasma selon deux formes :

***Forme liée :** inactive pharmacologiquement, non diffusible, non métabolisable, non éliminable et une sorte de forme de réserve.

***Forme libre ou non liée :** active pharmacologiquement, diffusible, métabolisable et éliminable. (P. Kintz, 2012 ; HP.Rang et coll, 2016)

La liaison aux protéines plasmatiques est réversible et non figé dans le temps, elle peut soit retarder la diffusion dans les tissus soit retarder l'épuration. Cette liaison peut être influencée par certains facteurs comme la liposolubilité de la molécule, une modification du taux d'albumine ...etc. (Klaassen et Watkins, 2015 ; P. Kintz, 2012 ; Rang et coll, 2016)

c-Stabilité des drogues dans le sang périphérique :

La fenêtre de détection des xénobiotiques est un révélateur primordial. Fréquemment le toxicologue est soumis à la question pendant combien du temps un produit peut être détecté après qu'il ait été administré d'où la nécessité d'étudier la stabilité des drogues au sein des différentes matrices (A.G.Verstraet, 2002). En dépit des concentrations sanguines faibles (ng/ml), les composés retrouvés dans le sang résident sous leur forme originale, le délai de détection est en règle générale de plusieurs heures (V.DIFazio et M. Gosselin, 2011). Il est à noter que les matrices dans lesquelles les composés sont les plus stables sont les matrices sanguines (C.Bottinelli et F.Bévalot, 2017). En post mortem, le sang extracardiaque est le plus important à prélever, il n'étant sujet ni au relargage post mortem des cellules cardiaques, ni à la diffusion post mortem depuis le contenu gastrique donc les résultats d'analyse sont sans risque d'erreur (P. Kintz, 2012).

Les composés volatils sont difficiles à identifier et à quantifier (solvant industriels, cyanures, Popper, anesthésiants, fréon), seul un prélèvement du sang périphérique dans des conditions rigoureuses permet leur identification. (G.Pépin et coll, 1998)

Exemple de Stabilité de certains produits dans le sang :

1-L'amphétamine: Le temps de demi-vie : 7-34 heures. Il est détectable dans le sang pendant 46h après l'ingestion d'une dose de 10mg. (A.G. Verstraete ; 2002)

2- 3,4-méthylènedioxy-N-méthylamphétamine (MDMA), ecstasy et dérivés :

Le temps de demi-vie : 7-8 h. Dans une étude chez 8 volontaires, l'administration de 100 mg de MDMA était détectable dans le sang pendant 24h avec une concentration de 13.5 ng/ml. (A. G. VERSTRAETE ; 2002)

d- Modalités de prélèvement :

d-1-Prélèvement du vivant :

d-1-1- Dans un contexte de sécurité routière :

Le prélèvement sanguin est réalisé par ponction veineuse sur quatre tubes, dont deux tubes héparinés sous vide contenant 7-10 ml du sang et deux tubes de 5 ml prélevés sur fluorure de sodium (NaF) pour le dosage de l'éthanol dans le sang si aucun dépistage sur l'air expiré n'a pu être réalisé. Deux de ces tubes sont destinés à la première analyse alors que les deux autres étant conservés au congélateur pour une éventuelle contre-expertise. (P.Kintz, 2012)

d-1-2-Dans un contexte de soumission chimique :

Le sang est le prélèvement de choix s'il est réalisé dans les 24h qui succèdent les faits présumés par ce qu'il permet de confirmer une prise récente. Deux tubes de sang de 10 ml sont prélevés sur l'acide éthylène diamine tétra acétique (EDTA) en vue d'éviter la formation in vitro de gamma hydroxy butyrate (GHB) dont un pour l'analyse et un second pour la contre-expertise. Pour le dosage de l'éthanolémie, un tube de 5 ml contenant du NaF. (P.Kintz, 2012)

d-1-3-Pour l'analyse des métaux : A l'heure actuelle, on considère qu'un prélèvement correctement réalisé n'est pas contaminant pour l'analyse et que les contrôles de qualité sont assez bien développés pour l'analyse des métaux dans le sang et les urines. Il faut éviter la désinfection cutanée en utilisant du mercure et d'antiseptiques mercuriels, de Dakin. Pour le matériel de prélèvement on doit utiliser des aiguilles métalliques avec une utilisation privilégiée du cathéter en téflon. Pour les tubes de prélèvement, les matières plastiques sont généralement satisfaisantes après avoir fait l'objet de contrôle pour chaque élément considéré. Par contre, les tubes en caoutchouc et les tubes en verre ordinaire sont à proscrire.

D'une façon générale et dans la mesure du possible, on privilégiera l'emploi de tubes dites « spécifiques au dosage des éléments traces ». Les métaux se répartissent d'une façon inégale sur les différents composants du sang ce qui amène à doser les métaux sur le sérum, plasma (aluminium), sang total et globules rouges (plomb, cadmium). Généralement, le prélèvement est effectué sous anticoagulant : Le citrate de sodium est d'action limitée et présente l'inconvénient d'être complexant, l'héparine de lithium est convenable sauf pour la lithiémie, l'EDTA ou les autres héparinates. (P.Kintz; 2012 ; G.Pépin et coll, 1998 ; L.Labat, 2010)

d-2-Prélèvement d'autopsie :

***Cas général :** Le prélèvement se fait au niveau des veines iliaques ou fémorales à la seringue après massage ascendant éventuel de la cuisse et élévation de la jambe afin de permettre d'obtenir une quantité suffisante du prélèvement. En outre, il peut être pratiqué à la cuiller après section des veines et artères iliaques ou fémorales. Dix ml sont suffisants, mais il est fréquent que la quantité disponible soit plus faible.

Dès que le prélèvement est effectué, le sang périphérique est réparti en deux :

- 5ml dans un pot en verre ou plastique sans anticoagulant ou conservateur (ou un tube sec sans gélose).
- L'autre moitié est prélevée dans un tube sans gélose additionné de NaF (1 à 2%) en vue d'éviter l'apparition d'alcool endogène par fermentation aérobie. Il devra être complètement rempli afin d'éviter les pertes d'éthanol au moment de l'ouverture du flacon. Ce flacon sera réservé à l'alcoolémie et au dosage des molécules à tropisme ou à grand volume de distribution. De plus, le dosage de l'éthanol et des cyanures, sujet à une production bactérienne in vitro, et du dosage de la cocaïne (facilement dégradable). (P.Kintz; 2012 ; G.Pépin et coll, 1998)

***Recherche des composés volatiles :** Il convient de prélever du sang périphérique par seringue étanche aux gaz en verre ou en plastique en cas d'intoxication par des substances volatiles. Cette seringue est rapidement rebouchée et congelée pour prévenir la perte totale ou partielle lors du prélèvement. Ce système permet une mesure précise du volume sanguin à transférer dans les fioles propres à chaque appareillage pour l'analyse de l'espace de tête des flacons « head-space » par chromatographie en phase gazeuse (CG) permettant l'identification mais également la quantification nécessaire à l'interprétation. (P.Kintz; 2012 ; G.Pépin et coll, 1998)

***Suspicion d'une intoxication à l'insuline :**

En cas d'un décès inexplicable chez un diabétique insulino-dépendant, un dosage d'insuline doit être réalisé cependant sa stabilité est très faible en post mortem. Par conséquent, il est fortement recommandé d'effectuer un prélèvement du sang le plus rapidement possible après le décès, de le centrifuger immédiatement après le recueil pour éviter au maximum l'hémolyse post mortem, et de doser l'insuline avec une méthode radio-immunologique. (un dosage en parallèle du peptide C permet de confirmer les résultats). (P.Kintz; 2012)

***L'analyse des métaux :** En médico-légal, pour le sang du cadavre, en considération des difficultés à obtenir des prélèvements destinés aux examens des métaux, deux types de contenant sont fréquemment utilisés : des flacons ronds en verre ordinaire de 15 ml, contenant du fluorure de sodium, couramment utilisés pour l'alcoolémie et des tubes en polyéthylène téréphtalate (PET) de 4 ml contenant du NaF et de l'oxalate du potassium.(L.Labat,2010)

d-3-Prélèvement lors d'une levée du corps :

C'est l'examen externe du cadavre réalisé en lieu et temps de sa découverte sur réquisition d'un officier de police judiciaire, voir du procureur de la république. Un prélèvement du sang périphérique est effectué malgré qu'il n'est pas aisé à effectuer,il est pratiqué à la seringue au niveau sous-clavier ou en fémoral.(P. Kintz; 2012)

e- Conditions de conservation :

En vue d'assurer une stabilité adéquate, le stockage de l'échantillon se fera couramment à +4°C ou -20°C. Un bon compromis est de conserver les échantillons de sang et de détruire les autres prélèvements après un certain temps (tableau 2). (P. Kintz; 2012)

Tableau 2 :Conditions de conservation du prélèvement sanguin selon le contexte de l'analyse toxicologique à effectuer (P.Kintz; 2012 ; N.Allibe et coll, 2016, V. DIFazioetM. Gosselin, 2011)

Le contexte	Condition de conservation du prélèvement urinaire
Sécurité routière	-Avant les analyses : +4°C, après les analyses : congélation pendant une durée de 9 mois pour l'alcoolémie, 1 an pour les stupéfiants.
Soumission chimique délai de plainte<3J	-A congeler rapidement avant analyse et à conserver congelé après analyse. -Durée : pas de destruction possible sans accord de l'autorité requérante si contexte judiciaire.
En post-mortem	-tous les prélèvements seront conservés au congélateur durant des mois, voire des années.
Pour le dosage des substances minérales	-Pour le dosage des cyanures, les prélèvements seront placés à +4°C, puis aliquotés et placés à -

20°C le plus rapidement possible.

2- Sang cardiaque :

a-Physiologie :

Pendant la vie, le sang est facilement échantillonné, les concentrations du médicament sont raisonnablement homogènes dans l'ensemble ; et pour la plupart des médicaments, leur concentrations représentent une approximation de la quantité de médicaments actifs dans le corps. Alors que beaucoup de ces approximations ne tiennent pas toujours vrai après la mort. Théoriquement, le sang post mortem peut être prélevé sur presque n'importe quel vaisseau sanguin dans le corps, une zone aussi éloignée que possible des organes centraux du corps et préférable afin de minimiser les effets de la redistribution post mortem. En effet, plus les vaisseaux sanguins sont éloignés des organes centraux, plus ils sont petits et moins qu'ils contiennent du sang. De ce fait, un compromis est de recueillir un grand volume du sang « central » où il est le plus facile à obtenir (cœur, veine cave inférieure, veine sous-clavière) et une plus petite, de bonne qualité échantillon du sang périphérique. Le sang central peut être utilisé pour le dépistage qualitatif des médicaments ou l'analyse quantitative des drogues non soumises à la redistribution post mortem. (B.Madea, 2014 ; A.Negrusz et G.Cooper, 2013)

b-Absorption et distribution des xénobiotiques :

La résorption et la diffusion des xénobiotiques à travers les membranes des tissus cardiaques dépendent non seulement des propriétés physicochimiques de la molécule mais également des caractéristiques du tissu cible. L'irrigation des organes a un effet majoritaire sur la distribution. En effet, le débit cardiaque est d'environ de 5 litres/ minute chez l'adulte, ces 5 litres sont à répartir sur l'ensemble de l'organisme : les quatre cinquièmes vont vers les organes vitaux dont le muscle cardiaque.(P.Kintz, 2012)

Les médicaments à tropisme cardiaque ou bien ceux dont la fixation tissulaire est majoritaire vont subir un relargage post mortem. D'une part, suite à une lyse cellulaire myocardique on aura une très forte augmentation des concentrations toxiques dans le sang de la cavité cardiaque, alors qu'il y avait banalement des taux thérapeutiques dans le sang périphérique : possible erreur d'interprétation. D'autre part, en considérant la position horizontale du corps, les molécules à forte diffusion tel que l'alcool, peuvent migrer de la cavité digestive vers le cœur assez proche provoquant ainsi une augmentation des concentrations sanguines

cardiaques : redistribution post mortem depuis le contenu gastrique. (P.Kintz, 2012 ; V.DIFazio et M.Gosselin, 2011 ;G.Pépin et coll, 1998)

c- Stabilité des drogues :(P.Kintz, 2012)

- Les études montrent que les concentrations en éthanol sont plus élevées dans le sang cardiaque que le sang périphérique. De plus, dans le cas post mortem la néoformation de l'alcool lors de la putréfaction par fermentation des glucides par micro-organisme : génération d'éthanol post mortem.

- Dans le sang les cannabinoïdes majoritaires sont : tetrahydrocannabinol(THC), 11-Hydroxy- Δ^9 -tetrahydrocannabinol (11-OH THC) actif et le 11-nor-9-carboxy- Δ^9 – tétrahydrocannabinol (THC-COOH). Leurs délai de détection dans les matrices sanguines est environ : 2 à 10 h.

- La cocaïne présente une demi-vie de 0.5 à 1.5h : rapidement métabolisable. Dans le sang post mortem, elle peut se transformer en benzoylecgonine et/ou ecgoninéméthylester.

d- Modalités de prélèvement :

- Le sang cardiaque est le plus aisé à prélever. Il est présent en grande quantité lorsque le cadavre est relativement frais, et devient difficile à prélever si l'autopsie est réalisée plus de 4 à 5 jours après le décès. La quantité du sang cardiaque prélevée en routine est de 25 ml, (A.Negrusz et G.Cooper, 2013) cependant, une quantité de 10 ml est suffisante pour l'analyse toxicologique. (P. Kintz, 2012 ; G.Pépin et coll, 1998)

-Les échantillons du sang cardiaque sont idéalement prélevés après ouverture du sac péricardique, retrait du péricarde, et l'élimination du sang de la chambre gauche ou droite après séchage du cœur.

-Le prélèvement du sang central par insertion d'une aiguille à la paroi thoracique (« bâton aveugle ») est pratiqué, mais découragé. Bien que le sang central recueilli de cette manière peut être identifié au laboratoire comme sang cardiaque, il peut être contaminé par du liquide péricardique, liquide provenant de la cavité pleurale, ou du sang qui s'est vidé de la veine ou de l'artère pulmonaire ou de la veine cave inférieure (Jones, 2007). Le sang prélevé de cette manière est considéré comme non homogène.(A.Negrusz et G.Cooper, 2013)

- Un moyen de limiter la redistribution post mortem du contenu gastrique est de prélever le sang cardiaque à la seringue au niveau du cœur droit qui est moins contaminé que le cœur

gauche. Une fois prélevé à la seringue, il est immédiatement transféré dans un pot en verre ou plastique sans coagulant ni conservateur et clairement étiqueté « sang cardiaque ».

-Dans les cas de noyade, le médecin légiste peut prélever une seringue du sang cardiaque dans le cœur gauche et une seringue dans le cœur droit. Si le sujet est décédé par noyade, une hémodilution du cœur gauche est mise en évidence par dosage de l'hémoglobine ou du fer. (P.Kintz, 2012 ; V.DIFazio et M.Gosselin, 2011)

-Pour la bonne exécution des expertises toxicologiques, un prélèvement systématique de 30 ml du sang cardiaque contenu en 2 flacons en verre doit être effectué au cours de l'autopsie. De plus, il faut absolument éviter le prélèvement intra cardiaque à l'aveugle. (G.Pépin, 1998)

e- Conditions de conservation :

Les prélèvements doivent être conservés au froid à +4°C ou congelés à -20°C voire à -80°C si possible. Ils peuvent être conservés pendant des mois voire des années (G.Pépin, 1998 ; P.Kintz, 2012). Lors d'une étude rétrospective, pour le dosage des cyanures dans les prélèvements sanguins post-mortem (sang cardiaque, sang périphérique) : les prélèvements sont effectués sur NaF. Ils ont été conservés à +4°C lors de leur réception, puis aliquotés et placés à -20°C le plus tôt possible. (N. Allibe et coll, 2016)

3- Urines :

Les urines constituent un milieu intéressant, en complément du sang. Leur analyse apporte des informations cumulatives sur la consommation des xénobiotiques au cours des 24 à 48 heures précédant le recueil. (P. Compagnon et coll, 2006)

a- Physiologie :

L'urine est un ultrafiltrat du plasma avec des solutés sélectionnés réabsorbés, les autres solutés sont sécrétés et le volume d'eau final est déterminé par l'état d'hydratation du corps (N.A.Brunzel, 2013). L'urine est principalement constituée d'eau et est généralement exempt de protéines, lipides et de composés de haut poids moléculaire suite au mécanisme de filtration rénale. Les valeurs du pH de l'urine peuvent varier considérablement selon le régime alimentaire et les médicaments (C. Margalho, 2017). Egalement, le volume et la composition de l'urine peuvent varier considérablement selon l'alimentation, l'activité physique et l'état de santé de la personne. (N.A.Brunzel, 2013)

On distingue trois étapes :

a-1- Filtration glomérulaire

Environ 120 ml/min ou 7,2 L/H du liquide corporel s'écoule à travers les capillaires glomérulaires dans l'espace urinaire, ce fluide contient une certaine quantité de déchets dissous. La grande majorité de ce fluide filtré est récupérée le long du système tubulaire d'une manière qui exclut une grande partie des déchets filtrés. (J.Danziger et coll, 2012)

La paroi glomérulaire n'est perméable que pour les molécules dont le poids moléculaire est inférieur à 68 000 Da. Ainsi, les xénobiotiques libres sont soumis à la filtration glomérulaire, tandis que les molécules liées aux protéines plasmatiques résident dans la circulation sanguine. (P. Kintz; 2012 ;N.A.Brunzel, 2013)

a-2- Réabsorption tubulaire :

La réabsorption tubulaire aboutit à la réintégration du médicament dans la circulation générale, il s'agit d'un processus passif qui est lié à la liposolubilité, le degré d'ionisation des molécules et le pH urinaire.

Les substances liposolubles sont réabsorbées selon un gradient de concentration entretenu par les mécanismes de concentration de l'urine au contraire des substances hydrosolubles qui ne sont pas réintégrées. (P.kintz, 2012 ;N.A.Brunzel, 2013)

a-3- Sécrétion tubulaire

La sécrétion tubulaire est une étape facultative qui concerne les molécules qui n'ont pas encore été filtrées ou qui ont été réabsorbées selon un mécanisme actif en intervenant des transporteurs. (P. Kintz. 2012 ;J.Danziger et coll, 2012)

b- Elimination des xénobiotiques dans les urines :

L'élimination est l'étape finale du devenir du médicament /toxique de l'organisme. Elle concerne l'ensemble des xénobiotiques qu'ils soient présents sous forme inchangée (molécules hydrosolubles), sous forme de métabolites toxiques, actifs ou inactifs, ou sous forme conjuguée ou non.

Le rein qui reçoit à pression élevée environ 1400 ml/mn de sang, soit le quart du débit cardiaque, élimine les médicaments comme diverses autres substances de l'organisme. L'néphron est l'unité fondamentale du rein, agit par trois mécanismes différents : filtration glomérulaire, sécrétion tubulaire et réabsorption tubulaire (voir ci-dessus).(P.Kintz , 2012 ; - Allain P. 2020)

c- Facteurs modifiants l'excrétion urinaire :

Quand une personne est en bonne santé, l'urine finale contient les solutés dont le corps n'a pas besoin, dilués dans la quantité d'eau dont le corps ne fait pas besoin. L'urine excrétée est normalement 94% d'eau et 6% de solutés. (N. A. Brunzel, 2013 ; C. Burcham, 2014)

Les facteurs influençant l'épuration rénale sont :

c-1- L'âge et l'état de santé : L'élimination rénale d'un médicament, c'est-à-dire sa clairance rénale, est réduite au cours de l'insuffisance rénale et s'altère avec l'âge.

c-2- PH urinaire : Si les médicaments sont sous forme d'ions, la réabsorption dépend du pH de l'urine tubulaire. D'une part, si l'urine est acide, les substances basiques (amphétamines par exemple) sont davantage ionisées et donc moins réabsorbées. D'autre part, un xénobiotique acide sera mieux excrété si l'urine est basique car le produit sera ionisé donc non réabsorbé (exemple : aspirine)

c-3- Caractéristiques physico-chimiques du toxique : L'excrétion urinaire des xénobiotiques est influencée par leur poids moléculaire, polarité (hydrosolubilité) et le degré d'ionisation.

La fixation protéique des médicaments n'est pas forcément un facteur limitant de la sécrétion tubulaire si l'affinité du médicament est plus grande pour son transporteur tubulaire que pour les protéines plasmatiques. (P. Kintz ,2012 ; P. Andujar, 2018)

d- Facteurs modifiants la miction :

- Inhibition du tonus sympathique, avec un réflexe spino-fronto-cortical.
- Augmentation du tonus parasympathique avec stimulation du détrusor, relâchement du sphincter strié et des muscles périnéaux.

La miction normale est volontaire, ne nécessite pas de poussée abdominale et permet à la vessie de se vider complètement. La fréquence des mictions est d'environ 4 à 6 fois par jour. On peut remplir la vessie jusqu'à 500 à 600 ml, mais l'envie d'uriner est ressentie à partir de 300 ml.(GIGANTE, 2017 ;T.Hanslik et A.Flahault, 2013)

e- Fenêtre de détection des xénobiotiques :

Habituellement, les médicaments et leurs métabolites sont présents en concentrations élevées (facile à détecter) dans l'urine. Selon la drogue, le temps de détection dans ce spécimen peut varier de 24 h à 1 mois. C'est donc un excellent spécimen pour la détection d'une grande variété de substances.(C. Margalho, 2017)

Exemples: (A.G. Verstraete; 2002; K.Wolff, 2017)

***L'amphétamine :** -T_{1/2} : 7 à 34 h. (varie selon le pH urinaire)

- Si le pH urinaire est normal environ 30 % d'une dose d'amphétamine sera éliminée de façon inchangée.
- Si ce pH= 5 jusqu'à 74 % de la dose est éliminée de forme inchangée.

***MDMA, ecstasy et dérivés :**

Dans une étude, l'administration de 100 mg de MDMA était détectable dans les urines pendant plus de 48 heures. (A.G. VERSTRAETE; 2002; K.Wolff, 2017)

***Cannabis :**

De nombreux dérivés du cannabis peuvent être détectés; plus de 20 métabolites ont été identifiés dans l'urine et les fèces. Le THC est décelable pendant environ 10 heures dans les urines. (A.G. VERSTRAETE; 2002; K.Wolff, 2017)

***Cocaïne :** La benzoylecgonine (BZE), un des métabolites principaux de la cocaïne est positive dans les urines pendant un à deux jours après une administration intraveineuse de 20 mg. (Preston et coll., 2002).

***Opiacés : héroïne et morphine :** L'héroïne (diacétylmorphine) se décompose rapidement et n'est présente dans l'urine que sous forme de métabolites (p. ex., 6-MAM, morphine, ni morphine, etc.). (A.G. VERSTRAETE; 2002;K.Wolff, 2017)

***Les benzodiazépines :** Les benzodiazépines sont largement décomposées et excrétées dans l'urine sous forme de métabolites conjugués (La loup et al, 2007). La durée de détectabilité dans l'urine varie parce que leur élimination plasmatique t_{1/2} diffère considérablement.

***L'acide gamma-hydroxy butyrique :**

Le GHB est éliminé très rapidement (t_{1/2} : 20 minutes).Le GHB peut être détecté pendant environ moins de 12 heures dans les urines. (A.G. VERSTRAETE; 2002 ; K.Wolff, 2017)

***Alcool :** L'alcool est éliminé rapidement, avec une vitesse d'élimination entre 0.1 et 0.2 g/L/h. (A.G. VERSTRAETE; 2002; K.Wolff, 2017)

f- Modalités de prélèvements :

f-1- Chez le vivant :

f-1-1- Dans un contexte de sécurité routière :

L'objectif de ce prélèvement urinaire est de réaliser des épreuves de dépistage afin d'établir si la personne conduisait sous l'effet d'une drogue ou avait utilisé des stupéfiants. L'urine est

prélevée dans un pot en plastique incassable et sans conservateur, un volume de 10 ml est suffisant. (P. Kintz, 2012)

f-1-2- Dans un contexte de soumission chimique :

Trois prélèvements doivent être réalisés de façon systématique devant toute suspicion de soumission chimique : du sang, des urines et des cheveux. Ils doivent être réalisés le plus tôt possible après les faits présumés (Délai de plainte < 3 j), en vue d'améliorer les chances de retrouver une éventuelle substance responsable de soumission chimique. Ces prélèvements doivent également être réalisés dans un laboratoire hospitalier ou spécialisé selon la disponibilité. Deux flacons plastiques de 15 ml dont un pour analyse et un second pour une éventuelle contre-expertise, sont prélevés et conservés.(P. Kintz; 2012)

f-1-3- Prélèvements dans un contexte d'infraction à la législation sur les stupéfiants :

Habituellement un prélèvement urinaire est effectué dans l'intention de différencier un revendeur consommateur d'un revendeur ne consommant pas des stupéfiants, la peine encourue étant souvent différente. Couramment, deux flacons en plastique de 15 ml sont convenables pour l'analyse.(P. Kintz; 2012)

f-1-4- Prélèvement pour le dosage des métaux :

Il est fréquent d'utiliser des flacons en polystyrène transparent munis d'un bouchon à vis en polypropylène. Occasionnellement, on exige les urines de 24h en considérant des variations nyctémérales d'un grand nombre d'éléments traces. Parfois, on exige l'utilisation d'un récipient contenant un acide de qualité supra pur par crainte de la présence de sédiments et de sels rapidement insolubles tels les phosphates. (Chappuis P et Poupon J, 1991 ; L. Labat, 2010). Le volume à prélever en ante mortem est de 25 à 100 ml et en post mortem toute la quantité possible.(A. Negrusz et Gail AA Cooper, 2013)

f-2- En post mortem :

Il s'agit d'un prélèvement systématique pour dépistage immunochimique et criblage chromatographique. L'échantillon est recueilli par ponction vésicale. (P. Kintz, 2012)

f-2-1- Prélèvement effectué lors de l'autopsie :

Dans les milieux post-mortem, l'urine est recueillie par insertion à l'aide d'une seringue hypodermique directement dans la vessie sous visualisation. Il faut éviter de percer la paroi abdominale pour réduire la possibilité de contamination. (A. Negrusz et Gail AA.Cooper, 2013). Après, l'échantillon est transféré dans un pot en verre ou plastique sans conservateur.

Dans le cas d'un décès toxique accompagné d'une agonie longue, on peut envisager la formation d'un globe vésicale suite à une rétention d'un volume important d'urine. Cependant, un volume de 5 à 10 ml est suffisant pour effectuer les analyses toxicologiques dans le cadre d'une investigation médico-légale.

Dans certains cas, la vessie est apparemment vide ; fréquemment, on peut collecter le volume nécessaire à l'analyse en disséquant cette dernière. (P.Kintz, 2012)

f-2-2- Prélèvement lors d'une levée du corps :

Couramment, il est exigé d'appliquer un prélèvement du sang et un prélèvement d'urine. Le prélèvement sus-pubien est extrêmement déconseillé à cause du risque d'altération en cas d'autopsie ultérieure.(P.Kintz, 2012)

g- Conditions de conservation :

Les conditions de conservation des urines sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 3: Conditions de conservation des urines selon le contexte de l'analyse toxicologique (P. Kintz, 2012, A. Pineau et O. Guillard, 2001 ;Labat, 2010)

Le contexte	Condition de conservation du prélèvement urinaire
Sécurité routière	-+4°C si dépistage différé -Congélation si délai > 24h
Soumission chimique délai de plainte<3J	-À congeler rapidement avant analyse et à conserver congeléaprès analyse. - À conserver à l'abri de la lumière pour éviter la dégradation du Lysergicaciddiethylamide (LSD) -Durée : pas de destruction possible sans accord de l'autoritérequérante si contexte judiciaire
Infraction à la législation sur les stupéfiants	-+ 4 °C si délai < 24 h -Congélation si délai > 24 h - À conserver à l'abri de la lumière pour éviter la dégradation du LSD en particulier photo sensible.
Pour le dosage des métaux	-Pour la plupart des métaux dans les urines,

	l'acidification nitrique suffit à assurer une bonne conservation pendant quelques semaines à +4 °C.
--	---

4-Contenu gastrique :

a-Composition :

L'estomac est un organe du système digestif qui fait suite à l'œsophage, il réceptionne l'ensemble des aliments ingurgités lors de chaque prise alimentaire.

En toxicologie, le contenu gastrique désigne tous ce qu'on peut trouver dans la cavité stomacale : bol alimentaire, substances administrés par voie orale (médicaments, plantes, détergents.....) et les substances éliminées dans la salive ou absorbées par voie respiratoire puis dégluties et passage dans le tube digestif, tous baignant dans le suc gastrique.

***Composition du suc gastrique :**

Le suc gastrique est un liquide acide composé de différents constituants, et dans lequel est brassé le bol alimentaire. Le suc gastrique est sécrété par les glandes de la paroi gastrique, sa sécrétion et sa composition sont variables dans les 24 heures : faible débit et faible acidité libre loin des repas, fort débit et pH =1,0 lors de la digestion.

Dans le suc gastrique, on identifie principalement de l'acide chlorhydrique (HCl), qui permet de diviser les aliments en portions de petites tailles plus facilement assimilables dans l'intestin et de dégrader la plupart des bactéries. Plusieurs enzymes sont également présentes dans le suc gastrique, les principales enzymes sont la lipase gastrique qui permet de découper les graisses consommées, ainsi que la pepsine qui segmente les protéines des aliments en fragments de petites dimensions. (Perret, 2018).

On trouve également dans le suc gastrique : L'enzyme : gastrine : sécrétée par les cellules G de la muqueuse pylorique de l'estomac et stimule la sécrétion de l'acide chlorhydrique (HCl) dans le fundus gastrique, le mucus, et le facteur intrinsèque jouant un rôle fondamental dans l'absorption de la vitamine B12 ainsi que l'eau, des ions : sodium, potassium, calcium et magnésium. (Santé et nutrition, 2020).

b-Elimination des drogues dans le tube digestif :

***Excrétion salivaire:** utilise un mécanisme de diffusion passive et parfois un mécanisme de sécrétion active. Cette voie d'élimination permet de mettre en évidence certains xénobiotiques dans la salive (on dose alors l'équivalent de la fraction plasmatique libre d'antibiotiques, du cortisol, des corticoïdes et certains antiépileptiques). (A.Coquerel & Lemaire-Hurtel, 2012)

***Excrétion biliaire :** utilise un mécanisme de transport actif, concerne les grosses molécules, et les substances sécrétées par cette voie subissent un cycle entéro-hépatique (durée d'élimination allongée). (Andujar, 2017)

***Sécrétion intestinale :** c'est une élimination lente, concerne les formes ionisées au pH intestinal (pH = 5,3) et selon le gradient de concentration. (Andujar, 2017)

c-Modalités de prélèvement :

Le prélèvement du contenu gastrique se fait en post-mortem mais se fait également chez le vivant lors du lavage gastrique.

c-1- Chez le vivant :

Dans le cadre de l'intoxication médicamenteuse ou chimique, volontaire ou accidentelle, le lavage gastrique est réalisé par l'intermédiaire d'une sonde placée dans l'estomac et dans laquelle un volume important d'eau est injecté, puis récupéré par succion, vidant ainsi le contenu gastrique.

Le lavage gastrique a longtemps été considéré comme la méthode de référence pour l'évacuation digestive des toxiques. Pourtant son efficacité est en réalité très discutable. Le lavage gastrique est sûrement inutile pour les toxiques fonctionnels à faible potentiel toxique, comme les benzodiazépines par exemple.

De plus, il n'est éventuellement utile que s'il est pratiqué précocement. Ainsi pour la majorité des experts, le lavage gastrique est constamment inutile s'il est pratiqué plus d'une heure après l'ingestion des toxiques.(Danel, 2019)

L'analyse toxicologique la plus simple est visuelle et/ou olfactive et est réalisée sur le liquide du lavage gastrique. En effet, le contenu retiré de l'estomac peut avoir une couleur (aspect bleuté de l'antigel...) ou une odeur (alcool, trichloréthylène...) évocatrices d'un toxique ou montrer des comprimés, des gélules qui peuvent être identifiés. Par la suite, ce liquide peut donner lieu à une analyse toxicologique qualitative ou quantitative.(F.Lapostolle, SD)

En pratique, le lavage gastrique tend à être complètement abandonné compte tenu de l'absence de preuves d'efficacité et des risques inutiles encourus par le patient.(Danel, 2019)

c-2- En post-mortem :

C'est un prélèvement à utilisation systématique dans le cadre de la recherche des causes de décès, il est prélevé le plus souvent à la cuiller dans un flacon plastique après isolement et incision de la poche gastrique. L'aspect et l'odeur au moment de l'incision seront notés et indiqués au toxicologue notamment en cas d'odeurs caractéristiques comme celles d'alcools, d'amande amère (évoquant d'une intoxication aux cyanures), de solvants, d'hydrocarbures... (Ces odeurs de solvants ou hydrocarbures devront s'accompagner de prélèvements spécifiques pour substances volatiles). Dix millilitres (10 ml) sont suffisants pour l'analyse toxicologique. Le contenu gastrique n'est pas homogène et doit être homogénéisé avant l'échantillonnage.

Il est souvent disponible en grande quantité, qu'il soit sous forme liquide ou sous forme plus ou moins solide lorsque le sujet est décédé en phase postprandiale. Lorsque le contenu gastrique est solide, il est traité comme un prélèvement solide, avec pesée et mise en solution. Dans tous les cas, le volume total est noté et fourni au toxicologue, ce volume total permet, à partir des concentrations de substances mesurées lors de l'analyse, de déterminer la quantité encore présente dans le contenu gastrique car, parfois, le magistrat demande de calculer la quantité de substance absorbée. Il est préférable de communiquer aux magistrats uniquement la quantité encore restante dans l'estomac sans extrapoler la quantité réellement absorbée. Si la quantité restante est importante, cela permet de différencier une prise importante de principe actif et non l'absorption d'un seul comprimé dans le cadre d'un traitement.

Le contenu gastrique contient parfois des débris de comprimés ou gélules, voire des comprimés entiers. Dans ce cas, le contenu gastrique est tamisé, et ces débris sont isolés dans un flacon et envoyés au toxicologue, l'analyse de ces comprimés permet très rapidement de déterminer les substances ingérées lors du décès, et établir rapidement les causes de décès après dosage spécifique de ces substances dans le sang. Il peut s'agir également de boulettes contenant des produits stupéfiants en cas de décès chez un « *body packer* ». (Alvarez, 2012)

Le prélèvement doit être effectué en double, notamment dans les affaires criminelles, permettant ainsi une éventuelle contre-expertise. Le prélèvement doit être parfaitement identifié par le médecin légiste pour le toxicologue qui aura à l'analyser. L'étiquetage du prélèvement est primordial, cet étiquetage doit comporter un certain nombre de mentions :

le lieu, la date et le numéro de l'autopsie ; le nom et prénom du sujet ; le nom du médecin ayant pratiqué l'autopsie et le type du prélèvement. Une fois effectués, le prélèvement doit être scellé par les enquêteurs qui assistent à l'autopsie, notamment dans les affaires d'homicide. (G.Pepin, 1998)

d- Conservation :

Ce prélèvement sera conservé au congélateur durant des mois, voire des années. (Alvarez, 2012)

5-La bile :

La bile est un fluide de couleur jaune-verdâtre produit par les cellules constituant le foie, les hépatocytes, essentiel à la digestion des aliments et à la détoxification de notre organisme. Après sa fabrication, elle est recueillie par de petits canaux (les canalicules) débouchant sur de plus grands (les canaux biliaires), qui l'acheminent jusqu'au duodénum, la première partie de l'intestin grêle. Notre organisme produit en permanence de la bile, pour une quantité totale de 500 ml à 1 litre chaque jour ! La moitié environ est stockée au sein de la vésicule biliaire, notamment au cours de la période de jeûne de la nuit. (Santé, 2019)

a-Composition :

C'est un mélange de plusieurs éléments :

- une grande proportion d'eau : 97,5 % ;
- des sels biliaires, fabriqués à partir du cholestérol ;
- des pigments biliaires, issus notamment de la destruction de l'hémoglobine des globules rouges :
 - la bilirubine, de couleur jaune-marron, qui confère leur couleur aux urines et aux selles ;
 - la biliverdine, de couleur verte.
- du cholestérol ;
- des phospholipides, qui permettent notamment de solubiliser le cholestérol ;
- des sels minéraux sous forme d'ions : sodium, bicarbonates, potassium, calcium, chlore... (Santé, 2019)

b-Elimination des drogues dans la bile :

L'excrétion hépatobiliaire est la seconde voie importante après l'excrétion rénale. La sécrétion biliaire élimine les anions organiques endogènes (acides biliaires, bilirubine) et exogènes (xénobiotiques et leurs métabolites) dont l'excrétion rénale est limitée par la taille grosse des molécules et la faible hydrosolubilité. Cette fonction de « détoxification » nécessite des mécanismes coordonnés de biotransformation et de transport hépatocyttaire. La plupart des substances xénobiotiques lipophiles sont transformées en produits hydrophiles par une oxydation dépendant des cytochromes p450 du réticulum endoplasmique (biotransformation de phase I), et par conjugaison à des composés hydrophiles comme l'acide glucuronique, la taurine, la glycine et le glutathion (biotransformation de phase II). Les produits de ces réactions sont ensuite transportés hors de l'hépatocyte.

La formation de la bile et l'élimination biliaire des métabolites sont assurées par différents systèmes membranaires permettant le captage des anions organiques dans le sang sinusoidal et leur excrétion dans la bile. Ce transport orienté des anions « choléphiles » met en jeu différents systèmes aux pôles basolatéral et canaliculaire de l'hépatocyte. La bile primaire sécrétée par l'hépatocyte dans le canalicule biliaire est ensuite modifiée par absorption et sécrétion en passant le long de l'épithélium biliaire. (Jacquemin, 1998)

c-Modalités de prélèvement :

Prélevée à la seringue en quantité limitée (5 à 10 ml), montée avec une aiguille de gros diamètre puis conditionnée dans un flacon en verre. Le prélèvement doit être effectué en double, notamment dans les affaires criminelles, permettant ainsi une éventuelle contre-expertise et doit être parfaitement identifié par le médecin légiste. Une fois effectués, le prélèvement doit être scellé par les enquêteurs qui assistent à l'autopsie, notamment dans les affaires d'homicide. (G.Pepin, 1998)

d-Conditions de conservation :

Ce prélèvement sera conservé au congélateur durant des mois, voire des années. (G.Pepin, 1998)

6-Les viscères :

a-Distributions des xénobiotiques dans les viscères :

Le xénobiotique pour atteindre sa cible d'action pharmacologique doit parfois traverser plusieurs tissus, de natures différentes, et qui eux-mêmes échangent ce principe actif.

Tout comme pour la résorption, la diffusion va dépendre des propriétés physicochimiques des molécules (liposolubilité, masse moléculaire, degré d'ionisation...) mais également des caractéristiques des tissus cibles (hydrosolubilité ou liposolubilité favorable à tel ou tel xénobiotique entraînant ainsi leur accumulation : digoxine et tissu cardiaque, par exemple).

***Irrigation des organes :**

La distribution, phénomène dynamique, est influencée par l'irrigation des organes. Chez l'adulte en bonne santé et au repos, le débit cardiaque est d'environ de 5 litres/minute. Ces 5 litres sont à répartir sur l'ensemble de l'organisme : les quatre cinquièmes vont vers les organes vitaux : cœur, cerveau, foie, rein, et le reste irrigue les autres tissus (muscles, tissu adipeux, os...). Ces tissus hypoperfusés seront donc plus difficilement accessibles.

(A.Coquerel & Lemaire-Hurtel, 2012)

***Variations de la perméabilité aux xénobiotiques selon les organes :**

Il est important de préciser que la capacité de diffusion d'une même molécule est variable selon les organes. Certains tissus comme le foie présentent une paroi vasculaire composée de capillaires discontinus qui permettent une diffusion facile du médicament. Dans d'autres organes comme le cerveau ou plutôt l'ensemble du système nerveux central — encéphale, tronc cérébral et moelle épinière — la paroi vasculaire est constituée de capillaires continus difficilement franchissables, on parle de barrière hématoencéphalique (BHE). Cette barrière hématoencéphalique assure au système nerveux central une homéostasie particulière même pour les petites molécules, dont des neuromédiateurs classiques. Ainsi, la glycochorachie est 50 % plus faible que la glycémie et la concentration de glutamate libre reste de l'ordre de micromole dans le liquide cébrospinal alors qu'elle peut dépasser le millimole dans le sang après un repas riche en sauce au soja. Si des concentrations similaires atteignaient le système nerveux central, un état de mal épileptique serait garanti !

D'autres facteurs perturbent la diffusion, certains sont inhérents au sujet (âge, grossesse) ou à sa pathologie (déshydratation, grands brûlés, perturbations hémodynamiques comme un état de choc ou une insuffisance cardiaque grave). (A.Coquerel & Lemaire-Hurtel, 2012)

b-Principaux organes utilisés dans l'analyse toxicologique :

Cinq viscères sont habituellement prélevés : le cerveau, le cœur, les poumons, le foie et les reins. Ces tissus sont utilisés soit pour rechercher des toxiques qui s'y fixent particulièrement soit lorsque le corps est dilacéré par des traumatismes multiples (accident sur voie ferrée ou sur autoroute avec contribution de plusieurs véhicules), ou transpercés en de multiples endroits et exsangues (très nombreux coups de couteaux), ou carbonisés (les liquides biologiques classiques peuvent alors avoir totalement disparus), soit pour disposer de données pharmacocinétiques nécessaires à l'interprétation du mécanisme de l'intoxication. (G.Pepin, 1998)

b-1-Modalités de prélèvements :

Dix à vingt grammes de chacun des viscères sont prélevés et placés dans des pots séparés (tableau 4). Lorsqu'il y a suspicion d'intoxication à un gaz volatile, un prélèvement de poumon supplémentaire spécifique à cette recherche est réalisé, le pot est rempli pour éliminer le plus possible l'air, et fermé de manière étanche. (Alvarez, 2012)

Sur des cadavres frais, il est souvent possible d'obtenir aisément l'ensemble des échantillons sus cités dans des quantités très satisfaisantes pour l'expert toxicologue. Par contre, sur les cadavres dégradés (putréfiés, carbonisés, squelettisés) il conviendra qu'il y ait un échange direct entre toxicologue et médecin légiste pour connaître les limites des techniques toxicologiques sur ces substrats dégradés ; d'autres substrats pourront alors être analysés : muscle, moelle osseuse. Alors, il faut bien comprendre que plus le corps est dégradé, plus les limites sont importantes pour répondre à la question clé qui intéresse tout enquêteur ou magistrat. (Olivier Roussel, 2017)

Tableau 4 : Prélèvement d'organes en post-mortem (Alvarez, 2012)

Matrice	Recueil	Volume/quantité min. nécessaire	Contenant	Utilisation	Conservation
----------------	----------------	--	------------------	--------------------	---------------------

Viscères : foie, rein, cœur poumon, cerveau	Un bout de l'organe et non l'organe entier	10–20 g	Tube plastique	Prélèvement systématique mais utilisation alternative (pas de fluides) ou facultative (scientifique)	Congélateur
---	---	---------	-------------------	--	-------------

b-2-Conditions de conservation :

Comme pour le contenu gastrique et le prélèvement de bile, le prélèvement de viscères doit être effectué en double, notamment dans les affaires criminelles, permettant ainsi une éventuelle contre-expertise et doit être parfaitement identifié par le médecin légiste (étiquetage) Une fois effectué, le prélèvement doit être scellé par les enquêteurs qui assistent à l'autopsie, notamment dans les affaires d'homicide. Ce prélèvement sera conservé au congélateur durant des mois, voire des années. (G.Pepin, 1998)

IV- Avantages et inconvénients des matrices biologiques conventionnelles :

Les matrices biologiques conventionnelles sont les plus analysées en toxicologie clinique et médico-légale (P.Kintz, 2012) et sont traditionnellement utilisées, mais en fonction de la mission demandée à l'expert, la vitesse de l'analyse, la possibilité instrumentale du laboratoire et du cadre dans lequel s'effectue cette investigation (V.D.Fazio et M.Gosselin, 2011) l'utilité de ces matrices biologiques vont être limitée.

1- Sang :

Le sang est le milieu de base pour la recherche malgré sa grande complexité lors de l'analyse toxicologique (G. Pepin, 1998), il a l'avantage que seul la concentration sanguine d'un xénobiotique permet au toxicologue d'insérer cette substance dans les causes de la mort même si le volume disponible est faible (10ml), il est utilisé pour quantifier spécifiquement les molécules dans le sang (V. DI Fazio, 2011) après sa détermination dans d'autres matrices afin d'imputer ou non ces substances dans la survenue du décès.

De plus le sang périphérique est le plus important à prélever, il permet de doser toutes les molécules qui peuvent entraîner la mort et permet d'interpréter les résultats sans risque

d'erreur car il n'est pas influencé par le relargage post mortem ou la diffusion post mortem depuis le contenu gastrique. Le sang cardiaque est aisément prélevé, en quantité importante, et en quantité nécessaire à la réalisation d'une recherche toxicologique complexe (G. Pepin, 1998) Chez le vivant, le sang hépariné est le milieu de choix pour le dosage des stupéfiants (Une stabilité adéquate) et il est utilisé pour confirmer la présence et le dosage des drogues. Si le délai de prélèvement est <24 h, il permet de confirmer une prise récente (P. Kintz, 2012) et que les concentrations sont corrélées aux symptômes observés (M. Augsburger, 2008) avec la forme originale des xénobiotiques dans la majorité des cas (V. DI Fazio, 2011).

Par contre, il est très fréquent de ne pas trouver la molécule impliquée dans le décès à cause de sa demi vie, elle disparaît plus ou moins vite du sang et au-delà de 24h la probabilité de retrouver une substance est faible (P. Kintz, 2012) avec risque de contamination. Les concentrations retrouvées sont faibles, de l'ordre de $\mu\text{g/ml}$ d'où la nécessité d'effectuer le prélèvement sous anticoagulant pour éviter la dégradation in vitro de certains composés par les enzymes présentes dans le sang (V. DI Fazio, 2011), en plus la redistribution post mortem entraîne une augmentation importante des concentrations des toxiques aboutissant à la conclusion d'accidents thérapeutiques alors qu'il y avait des taux thérapeutiques dans le sang périphérique (V. DI Fazio, 2011) et (G. Pepin, 1998). Cette redistribution par relargage des cellules myocardiques et par diffusion depuis le contenu gastrique limite l'intérêt du sang cardiaque qui sera utilisé seulement dans les analyses qualitatives (P. Kintz, 2012).

2- L'urine :

De nombreux composés sont éliminés dans les urines ce qui permet de confirmer les substances retrouvées dans le sang et parfois identifier des molécules passés inaperçus. L'analyse d'urine est un ensemble de tests effectués pour examiner les urines. Elle permet de trouver et de mesurer des substances comme les électrolytes, le sucre (glucose), les protéines, le sang, les cellules et les bactéries (Société canadienne du cancer, 2020). et aussi le dépistage immunochimique d'un grand nombre de xénobiotiques, qui permet d'identifier rapidement une overdose de stupéfiants comme cause de décès puisqu'il existe aujourd'hui un grand nombre de composés pouvant être dépistés : les opiacés, cocaïne, amphétamines, cannabis, méthadone, la buprénorphine ... etc. La présence d'une molécule dans les urines et son absence du sang permettent de conclure que la dernière prise est ancienne et d'exclure la participation de cette molécule aux causes de décès (P. Kintz, 2012). De plus, l'existence d'un

toxique dans l'urine peut orienter sur le choix des conditions d'extraction dans le sang et permet une bonne évaluation quantitative du xénobiotique identifié dans ce milieu complexe.

Le prélèvement urinaire est un liquide biologique de choix, par sa pureté (98 % d'eau) et sa simplicité (G. Pepin, 1998), par contre, la concentration urinaire seul ne permet jamais de conclure le délai entre la dernière prise du principe actif et le décès et de conclure la cause du décès, la quantification urinaire peut avoir un intérêt lorsqu'on quantifie un principe actif et son ou ses métabolites, l'absence de métabolites avec la présence du principe actif est relative à un décès rapide après l'absorption du principe actif mais lorsque le sujet est habituellement traité par ce principe actif, les métabolites sont déjà présents dans les urines et aussi chez les sujets déficients en certains métabolismes peuvent ne présenter naturellement de métabolites, aussi il est fortement déconseillé de les quantifier sans connaître les paramètres hydriques, la diurèse et l'état de la fonction rénale avant le décès (P. Kintz, 2012)

Chez le vivant, les urines ont l'avantage de présenter des concentrations importantes de métabolites ce qui facilite la recherche immunologique (P. Kintz, 2012); (V. DI Fazio, 2011) et les molécules sont retrouvées à des concentrations de l'ordre du $\mu\text{g/l}$ soit 1000× que celle retrouvées dans le sang avec un délai de détection plus grand (2 à 3 jours). Elles permettent aussi de différencier un revendeur non toxicomane d'un revendeur également consommateur (V. DI Fazio, 2011) En revanche l'élimination urinaire des métabolites est lente et donc ça persiste plusieurs jours après une prise, ceci ne permet pas donc de distinguer une prise récente d'une prise remontant à plusieurs jours. Ainsi, la nécessité d'hydrolyser pour augmenter la sensibilité car de nombreuses substances sont conjuguées, en plus les urines ont l'inconvénient de présenter surtout les métabolites et sont peu pratiques à réaliser sur le bord de route, à noter également la possibilité d'adultération et de substitution des échantillons (P. Kintz, 2012).

3-Le contenu gastrique :

Le contenu gastrique présente de nombreux avantages, en fait il est souvent le milieu de choix lors des intoxications par des caustiques ménagers, selon l'Organisation mondiale de la Santé (OMS), le contenu gastrique peut fournir des informations précieuses concernant les composés ingérés et fournir un excellent matériel pour le dépistage préliminaire en raison des quantités éventuellement importantes du médicament qui peuvent être présents. Il est disponible en grande quantité soit sous forme liquide ou plus ou moins solide lorsque le sujet est décédé en phase post prandiale.

Lorsqu'il est présent sous forme solide cela signifie la présence de produits non métabolisés et même des comprimés plus ou moins délités (G. Pepin, 1998) ce qui permet de déterminer la quantité restante à partir des concentrations des substances mesurées lors de l'analyse. Cela permet de différencier une prise importante du principe actif d'une absorption d'un seul comprimé pour le traitement, en plus l'analyse de ces comprimés permet très rapidement et facilement de déterminer les substances ingérées lors de la mort et donc d'établir rapidement les causes de décès après dosage spécifique dans le sang.

Aussi la quantité du principe actif contenu dans le comprimé est de l'ordre du milligramme alors qu'elle est de l'ordre du nano gramme dans le sang .De plus, la présence du principe actif et non des métabolites permet une bonne identification notamment en chromatographie liquide (CL) couplée à une détection. Le contenu gastrique permet également d'identifier la voie d'administration des substances responsables du décès puisqu'il est considéré comme un organe et la distribution pharmacocinétique implique que l'on retrouve une faible quantité de métabolites comme dans les autres organes. (P. Kintz, 2012)

4- La bile :

La bile est particulièrement intéressante surtout en cas d'absence d'urine (G. Pepin, 1998), son prélèvement est aisé en cas d'autopsie (Bévalot, 2015) et elle reste disponible quelques jours après le décès tandis que le sang et les urines disparaissent plus tôt (P. Kintz, 2012). Elle se trouve dans un environnement fermé donc protégé aux contaminations bactériennes (Bévalot, 2015).

Elle présente un intérêt qualitatif parce qu'elle contient de nombreuses molécules et leurs métabolites qui se trouvent à des concentrations supérieures à celles dans le sang avec une demi vie plus longue. En fait, le ratio bile /sang est d'environ 5,74 et la fenêtre de détection est plus longue, ainsi la bile représente une matrice complémentaire au sang pour réaliser un screening systématique des médicaments, elle est aussi utilisée pour le criblage puisqu'elle est riche en certaines molécules (exemple : opiacés) et métabolites (Bévalot, 2015), ou en cas de suspicion d'over dose à l'héroïne et qu'il n'y pas d'urines par la mise en évidence de la 6 monoacétyl morphine (6_MAM) qui signe la prise d'héroïne (P. Kintz, 2012). Enfin, si l'analyse du sang est négative, cela ne devrait pas dire que le résultat toxicologique est négatif sauf si la bile est analysée en complément. Elle présente, également, un intérêt quantitatif pour un petit nombre de molécules. Par ses avantages, la bile est proposée comme matrice de choix pour le dépistage de médicaments et stupéfiants (Bévalot, 2015).

La bile est une source de redistribution post mortem car elle contient des fortes concentrations en xénobiotiques et aussi c'est une cible de diffusion des molécules provenant des organes abdominaux anatomiquement proches (Bévalot, 2015), c'est le cas lors de la contamination par l'éthanol provenant du contenu gastrique (P. Kintz, 2012). Pour cela, la bile est généralement inutilisable que si l'urine ou autre milieu d'élimination d'analyse plus facile est absent ; de plus la recherche sur l'interprétation quantitative des xénobiotiques est peu pratiquée (Bévalot, 2015).

5- Viscères :

L'analyse des viscères est réalisée en cas d'absence de milieux liquides ou dans un cadre scientifique (P. Kintz, 2012). Des quantités de l'ordre de dizaines de gramme (20 g en moyenne) des organes sont suffisantes pour réaliser un examen toxicologique et obtenir des résultats en nanogramme, picogramme et microgramme de xénobiotiques. Les viscères sont utilisés pour rechercher les toxiques fixés sur les organes et lorsque le corps est morcelé par des traumatismes (lors d'accidents surtout) ou transpercés en plusieurs endroits et exsangue ou carbonisé (ce qui aboutit à la disparition des liquides biologiques) (G. Pepin, 1998).

De plus ces prélèvements peuvent servir à des études bactériologiques, biochimiques, immunologiques, histopathologiques, cytogénétiques, culture cellulaireetc. (Cambier, 2001). L'analyse des viscères fournit des données pharmacocinétiques nécessaires à l'interprétation du mécanisme d'intoxication (G. Pepin, 1998) et peut apporter des informations complémentaires aux diagnostics non obtenus au lit du malade, avec un avantage d'effectuer les prélèvements sans délai, au besoin dans les services où le malade est décédé (Cambier, 2001).

D'autre part, la comparaison des concentrations des molécules dans le sang, le poumon et le contenu gastrique permet de connaître si l'usage est toxicomaniaque ou accidentelle.

Dans la fabrication des bombes les toxiques irritants se fixent sur les branches ou le larynx donc ne se trouvent pas dans le sang et aussi pour les produits volatiles le poumon est l'organe de choix, avec plus de facilité de détecter des nitrites d'amyle, de butyle ou de propyle dans le poumon que dans le sang. Dans le cœur certaines molécules se fixent sélectivement sur les cellules du myocarde.

Pour le cerveau l'intérêt est particulièrement pour les molécules lipophiles à tropisme cérébrale comme les opioïdes, avec possibilité de retrouver des composés volatiles dans la boîte crânienne alors qu'ils sont disparus des autres organes.

Les reins sont réservés pour la recherche des intoxications chroniques aux métaux lourds qui nécessitent de travailler sur des organes frais. Enfin, le foie qui est le siège principal du métabolisme, est essentiel lors de l'absence du sang et la bile par le cycle entéro- hépatique, en plus permet de trouver encore des métabolites alors qu'ils sont disparus du sang. En revanche, l'autopsie du poumon doit se faire peu de temps après l'inhalation et le prélèvement doit être mis dans un contenant parfaitement étanche. (G. Pepin, 1998).

Chapitre 2 : Matrices biologiques alternatives

I-Définition :

Dans certaines circonstances, on a recours vers l'utilisation de matrices dites alternatives ou non conventionnelles pour la détection des drogues. Elles bénéficient d'une collecte non invasive qui peut être effectuée facilement, généralement disponibles dans des échantillons relativement petits, malgré ça la détection et la mesure précise des drogues sont devenues possibles en raison du développement de techniques plus sensibles, telles que LC-MS, et GC-MS-MS. (J.L GRIFFITHS, 2012)

En toxicologie médico-légale, l'utilisation d'autres matrices biologiques comme alternative au sang a été décrite pendant des décennies et son importance dans les analyses toxicologiques a été examinée par certains auteurs. (C. Margalho, 2017)

Au cours des 15 dernières années, il y a eu une augmentation considérable de la littérature scientifique sur la détection de diverses drogues d'abus et de leurs métabolites, en cheveux, salive et sueur. (A. Negrusz et G.AA Cooper, 2013)

Les matrices alternatives s'imposent pour différentes raisons : plus grande précision recherchée, obligation d'être non invasif, possibilité d'analyse rétrospective, voie d'élimination ou de fixation connue et reconnue fiable, etc. (P. Kintz, 1997)

II-Classification :

Le type de matrices variera, mais dépendra en grande partie de la disponibilité, de la facilité de collecte, des considérations d'analyse et d'essai ainsi que de l'interprétation des résultats (Caplan, 2001). Les fenêtres de détection de drogue, ou la durée pendant laquelle une drogue peut être détectée après l'ingestion, doivent être prises en considération avec soin lors de l'interprétation des résultats de différentes matrices de drogue. (J.L. Griffiths, 2012)

1-Selon l'état du patient :

On peut les classer en trois groupes :

- **Spécimens pré-mortem** : dans de nombreux pays, l'utilisation de spécimens autres que l'urine dans les programmes de dépistage de drogues, mais aussi en toxicologie clinique, dans le traitement de la toxicomanie ou dans les systèmes de justice pénale a été activement explorée et poursuivie (A. Negrusz et G. AA Cooper; 2013), les plus

couramment utilisés sont la salive/le liquide buccal, les cheveux, la sueur, le lait maternel, le liquide amniotique et le méconium. (C. Margalho, 2017)

- **Spécimens postmortem** : les spécimens post mortem, les plus traditionnels, utilisés dans les analyses toxicologiques des drogues comprennent le foie et les reins, le cerveau, les os et la moelle osseuse, les cheveux, les ongles et l'humeur vitrée. Le liquide péricardique a également été documenté mais les travaux existants sont encore rares. (C. Margalho, 2017). Une matrice alternative idéale devrait permettre de détecter les mêmes xénobiotiques que ceux présents dans le sang, à des concentrations corrélées et sans effet postmortem. L'importance des résultats toxicologiques obtenus à partir de l'analyse des spécimens post mortem est la contribution importante à la détermination de la cause du décès et des circonstances au moment de leur apparition. (C. Margalho, 2017)
- **Pour compléter et confirmer des tests en milieu de travail** : jusqu'en 2004, la communauté de la toxicologie judiciaire était s'opposant à l'application de ces spécimens alternatifs dans le dépistage de drogues en milieu de travail. Les trois nouveaux spécimens considérés sont les cheveux, le liquide buccal (la salive) et la sueur. Aujourd'hui, chacun de ces spécimens est utilisé à l'extérieur des lieux de travail de réglementation fédérale pour les tests en milieu de travail et/ou en justice pénale. (A. Negrusz et G. AA cooper, 2008 ; Riffi et Okacha, 2013 ; Amanda, 2007)

2-Selon la pratique de l'expertise médico-légale :

Douze prélèvements doivent être systématiquement effectués à chaque autopsie lorsqu'ils sont disponibles, quelle que soit leur utilisation ultérieure. Ces douze prélèvements sont le sang périphérique et le sang cardiaque, les urines, le contenu gastrique, l'humeur vitrée, la bile, les viscères (et plus particulièrement le poumon, le foie, le rein, le cœur et le cerveau) les cheveux, le liquide de putréfaction, prélèvements nasopharyngés, larves et insectes et enfin les os. (P.Kintz, 2012)

Les matrices alternatives sont classées en :

- **Prélèvement obligatoire** : le sang périphérique et cardiaque, l'urine, contenu gastrique pour le criblage chromatographique, la bile, les viscères (d'utilisation facultative ou alternative), l'humeur vitrée, les cheveux (Prélèvement systématique mais utilisation facultative : chronicité ou non d'une consommation)
- **Prélèvement facultatif** : contenu gastrique pour identification des comprimés ou gélules ingérés, les prélèvements nasopharyngés, les liquides de putréfaction, parfois

même les larves ou insectes retrouvés sur les corps putréfiés et enfin les os lorsque subsiste uniquement le squelette. (P.Kintz, 2012 ; Riffi et Okacha, 2013)

3-Selon les domaines d'application :

On peut distinguer :

- **Des prélèvements valables pour le dépistage de multiples toxiques avec un domaine d'application large :** cheveux, angles et lait maternel.
- **Des prélèvements concernant une liste étroite des xénobiotiques avec un domaine d'application bien déterminé :** salive (suivie thérapeutique et dépistage des drogues, l'humeur vitrée (dosage de l'alcool éthylique en postmortem) et sueur pour suivi des toxicomanes sous traitement de substitution (Riffi et Okacha, 2013)

4-Selon les constituants biologiques et l'origine physiologique :

En principe, toute une gamme de spécimens biologiques pourrait être analysée pour évaluer la présence de médicaments, mais dans la pratique, leur pertinence est limitée par la facilité avec laquelle les échantillons peuvent être obtenus et par la disponibilité de la technique pour les analyser (Bennett et al, 2003 ;J.L. Griffiths, 2012).

Les matrices alternatives sont classées en :

4-1-Les phanères : cheveux et ongles.

4-2-Air expiré : l'échantillon privilégié lors du dépistage de l'alcool chez les athlètes. (A. Negrusz et G. AA Cooper, 2013)

4-3-Matrices d'origine maternelle : liquide amniotique, le méconium et le lait maternel.

4-4-Sécrétion glandulaires : Salive, sueur et larmes.

4-5-Humeur vitrées.

4-6-Autres : dents et prélèvements nasopharyngés. (Moins fréquemment, les dents en également servi de matrice à l'analyse du strontium) (L. Labat, 2010 ; A. Pineau et O. Guillard, 2001).

III- Mode d'incorporation des xénobiotiques dans les matrices biologiques alternatives :

1-Dans les phanères : en ce qui concerne les xénobiotiques, ils sont incorporés dans les ongles selon un double mécanisme. D'abord, dépôt des substances véhiculées dans l'ongle qui se forme par le flux sanguin au niveau de la matrice. Ensuite, incorporation jusqu'au début de la marge libre à partir de la lunule via le lit de l'ongle. En fonction de la vitesse de

pousse, la présence d'une xénobiotique lors de la coupe des ongles correspond à une exposition remontant à une période de 3 à 5 mois pour les ongles de la main et davantage pour les ongles (J-P. Goullé et coll,2007).(La matrice cheveux sera traitée ultérieurement dans le chapitre III)

2-Dans la salive :les substances sont transportées du sang vers les glandessalivaires, soit par diffusion passiveau travers des membranes cellulaires(mécanisme principal du transport : exige que les molécules soient liposolubles, non ionisées et non liées. Pour cette raison, les concentrations de drogues dans la salive représentent la fraction libre et non ionisée du plasma), soit parultrafiltration (molécules chargées électriquement) au travers des pores membranaires ou bien par transport actif (via les récepteurs). L'efficacité du transport est en relation avec les propriétés physicochimiques de la substance, du pourcentage de fixation protéique et du rapport du ph sang versus salive. (P.Kintz, 2012 ; J.L. Griffiths, 2012). Certains médicaments, comme la digoxine, les stéroïdes et les hormones, sont activement excrétés dans la salive par les cellules acineuses. (A. Negrusz et G. AA Cooper, 2013 ; M.J. Bogusz, 2008)

3-Dans la sueur:le mécanisme de l'apparition d'un médicament dans la sueur n'est pas entièrement compris. On croit que le principal mécanisme est la diffusion passive du sang dans les glandes sudoripares et la migration transdermique des médicaments à la surface de la peau où les médicaments sont dissous dans la sueur. (A. Negrusz et G. AA Cooper, 2013 ; M.J. Bogusz, 2008). Les médicaments de base non ionisés se diffusent dans la sueur et s'ionisent en raison du ph inférieur de la sueur par rapport au sang, qui est le même mécanisme que pour le fluide oral. Il semble que la masse moléculaire, PKa, degré de la fixation des protéines et la lipophilie déterminent principalement la disposition des médicaments et des métabolites. (M.J. Bogusz, 2008).Il est convenu que les médicaments parentaux soient généralement excrétés dans la sueur à des concentrations plus élevées que leurs métabolites (Cone et al, 1994). Cela est dû à leur lipophilie plus importante et au fait que les composés basiques ont tendance à s'accumuler dans la sueur en raison du piégeage ionique dans les conditions plus acides (Huestis et al, 1999 ; K. Wolff, R. Agombar et coll, 2017)

4-Dans les matrices d'origine maternelle : Il est bien établi que les substances illicites et licites peuvent traverser le placenta, principal lien physiologique entre la mère et le fœtus (M.J. Bogusz, 2008). La capacité du fœtus à avaler le liquide amniotique commence habituellement vers la 12e semaine de gestation, la liaison des médicaments et des métabolites

aux protéines dans le liquide amniotique qui est ensuite avalé par le fœtus peut expliquer l'exposition médicamenteuse du fœtus.

Les métabolites médicamenteux peuvent être formés par le foie fœtal et excrétés dans la bile ou l'urine. De la bile, ils sont déposés dans le méconium; de l'urine, ils sont excrétés dans le liquide amniotique et recirculés par la déglutition fœtale. Ainsi, le méconium est un dépôt final pour les médicaments auxquels le fœtus est exposé. Toutefois, certaines études ont conclu que la déglutition du fœtus n'est pas le principal mécanisme par lequel les drogues entrent dans le fœtus comme on le pensait auparavant et qu'en fait il y a d'autres voies par lesquelles le fœtus est exposé aux drogues.(A. Negrusz et G. AA Cooper, 2013 ; M.J Bogusz, 2008)

Beaucoup de drogues sont excrétées dans le lait maternel et la littérature scientifique et médicale contient de nombreuses citations de la présence de médicaments dans cette matrice. Les médicaments qui sont fortement liés aux protéines peuvent ne pas passer facilement dans le lait, mais les graisses émulsionnées contenues dans le lait peuvent concentrer des médicaments hautement liposolubles(A. Negrusz et G. AA Cooper ; 2013). Plusieurs modes de diffusion ont été individualisés mais le plus fréquent correspond à la diffusion passive, elle concerne les substances de formes non ionisées, poids moléculaire < 800 Da et liposolubles. Puis, on a la filtration qui concerne les toxiques hydrosolubles de PM : 100-200 Da. De plus, le transport actif (minoritaire), la diffusion facilitée et l'endocytose qui n'intéresse qu'exceptionnellement les médicaments à part ceux de très fort poids moléculaire. (C. Hecker-bechouch, 2005)

5-Dans l'humeur vitrée : la pénétration des médicaments dans la rétine dépend de différents facteurs dont la concentration plasmatique, la nature du médicament, son volume de distribution, sa liaison aux protéines plasmatiques et de la perméabilité relative de la barrière hémato-rétinienne (BRB). En fonction de leur nature, les molécules peuvent diffuser de manière passive ou être transportées de manière active à travers cette barrière: généralement plus une molécule est de haut poids moléculaire et/ou hydrophile, plus sa diffusion à travers une membrane dépendra du transport actif. Par ailleurs, comme seules les molécules non liées sont susceptibles de diffuser à travers les membranes biologiques, le pourcentage de liaison aux protéines plasmatiques est également un facteur déterminant de la diffusion. (F. Bévalot, 2014 ; J. Griffiths, 2012). Au sein de l'humeur vitrée, Seuls les médicaments libres de faible poids moléculaire peuvent traverser la barrière hémato-rétinienne par diffusion. Par conséquent, les médicaments à forte teneur en protéines ne devraient pas être présents dans

l'humeur vitrée. (C. Margalho, 2017 ; A.J. Jenkins, 2007). Les propriétés physico-chimiques de l'éthanol lui permettant de diffuser librement dans l'humeur vitrée, les concentrations suivent celles du sang avec un temps de latence très court. (B. Brunet et P. Mura, 2012)

6- Dans l'air expiré :

Le mécanisme de transport des xénobiotiques dans l'air expiré n'est pas connu, il faut simplement une tension de vapeur suffisante pour être excrété. (P. Kintz, sd)

IV-Intérêt des matrices alternatives en toxicologie :

Lorsque le sang est altéré du fait de phénomène post mortem, l'utilisation des matrices alternatives peut se révéler informative. La matrice alternative idéale est celle qui permettrait d'identifier les mêmes composés que ceux présent dans le sang, avec corrélation des concentrations entre les deux milieux et pour laquelle les phénomènes post mortem seraient absents. (F. Bévalot, 2016).

1-Cheveux :

L'analyse des cheveux présente de nombreux avantages sur les analyses traditionnelles sanguines et urinaires. Le prélèvement est moins invasif, conservé à température ambiante, et n'est pas sujet à l'adultération comme l'urine par exemple. L'échantillon de cheveux ne se décompose pas comme le font des liquides ou d'autres tissus biologiques, sa stabilité dans le temps est remarquable. Il a ainsi été possible d'identifier la cocaïne dans les cheveux de momie préviennent vieilles de plusieurs centaines d'années. De plus, les cheveux poussent environ 0,7 à 1,5 cm par mois permettant de différencier la prise unique de celle de la consommation régulière (N. Milan, 2013). On peut faire une analyse de cheveux avant le rendu du permis et savoir si la personne a arrêté la prise de stupéfiant. Ils sont utilisés aussi chez les sportifs pérennants des substances avant la compétition mais non pas pendant, les analyses urinaires pendant la compétition ne servent pas à grand-chose. Enfin, les cheveux sont intéressants lors de la soumission chimique et l'administration à des fins criminelles à l'insu de la victime de substances psychoactives (les plus utilisés sont les benzodiazépines et les hypnotiques) pour rendre la victime peu consciente ou inconsciente et avoir un effet amnésique antérograde (J- C. Alvarez, 2015)

2-Ongles :

Les ongles présentent des avantages lors des intoxications par l'arsenic, l'antimoine, le thallium, et au cours du saturnisme à cause de leur capacité d'accumuler et de stocker les

molécules organiques et les éléments minéraux. Le caractère peu invasif, la simplicité de recueil et l'absence des conditions de stockage et de conservation de prélèvement d'ongle sont également des avantages.

Les métaux, les électrolytes, les médicaments et les drogues incorporés à l'intérieur de l'ongle sont à l'abri des processus métaboliques du corps humain. La stabilité des molécules incorporées permet ainsi de réaliser des études rétrospectives relatives à l'exposition à un composé, les utilisations des ongles sont de ce fait intéressantes dans les études des expositions professionnelles ou environnementales à long terme. Ainsi, l'arsenic ou le plomb dans les ongles peuvent être mis en évidence des années après la mort d'un individu. De plus, ils permettent de mettre en évidence des molécules mères telles que la cocaïne, l'amphétamine ou de leurs métabolites comme la benzoylecgonine dans les addictions à la cocaïne, ou l'éthyle glucuronide lors de la consommation chronique d'alcool. Lorsque les consommateurs sont des femmes enceintes les études ont montré la présence dans les ongles des nourrissons les mêmes molécules consommées par leurs mères. (Lebrun-Vignes Bénédicte, 2011).

L'analyse des ongles (que se soit des mains ou des pieds) pour déterminer les drogues licites et illicites constitue également un outil particulièrement utile pour la toxicologie médico-légale. Certaines études, en particulier celles concernant la détection et la détermination des drogues illicites (p. ex., cocaïne, morphine, cannabis et composés liés à la méthamphétamine (MA), et incluant leurs nombreux métabolites, ont confirmé l'utilité des ongles comme complément ou alternative aux cheveux. En général, les ongles peuvent servir de spécimens biologiques potentiellement utiles pour la détection de l'usage antérieur de stupéfiants. Dans certains cas, les concentrations de morphine et de cocaïne étaient plus élevées dans les ongles des orteils que dans les cheveux. Cependant, la contamination externe des ongles analysés par ces substances doit être prise en compte. En outre, les ongles, comme ils ont des niveaux similaires de drogues et de leurs métabolites aux cheveux, peuvent fournir des preuves à l'appui dans les affaires médico-légales concernant les agressions sexuelles liées à la drogue. (K. A. Madej, 2010)

3-L'air expiré :

L'air expiré est l'échantillon privilégié lors du dépistage de l'alcool chez les athlètes et selon les lignes directrices de l'agence mondiale antidopage (AMA) précisant les procédures de dépistage de l'alcool dans l'air expiré. (A. Negrusz et coll, 2013). Mais, récemment, ce prélèvement a montré un intérêt pour la caractérisation des conduites addictives. (P. Kintz,

2020). Il pourrait ,potentiellement, fournir un moyen rapide, complet, non invasif et indolore pour accéder à l'état de santé d'une personne, et la répétabilité pratiquement sans limite en ce qui concerne la fréquence, l'accès et le coût.

Même si jusqu'à 3000 composés peuvent être détectés dans l'haleine, la matrice de l'air expiré est encore moins complexe que celle du sang ou d'autres fluides corporels. En outre, il peut être utilisé sur toutes les personnes, indépendamment de l'âge, le sexe, la race, le handicap ou d'autres caractéristiques. (ZhenzhenXie, 2017)

4- **Les sécrétions glandulaires :**

4-1-**La salive:**

Elle est caractérisée par la simplicité de son prélèvement et une collection plus aisée, est utilisée dans la détection d'une consommation récente. Les résultats pouvant être associés à une consommation datant de 12 à 24 heures (Nele. Samyn, 2002). Les concentrations salivaires des médicaments peuvent être utilisées pour déterminer les paramètres pharmacocinétiques.

Les avantages du dépistage des drogues par voie orale sont principalement de deux ordres :

*Les concentrations de médicaments dans la salive sont liés aux concentrations sanguines ou plasmatiques du médicament parent non lié non ionisé ou de ses métabolites.

* La collecte de salive ou de liquide buccal et non invasive, simple et peut-être effectuée sur place sous observation, ceux qui permettent de nombreuses applications en toxicologie par exemple, enquête sur l'implication de drogues dans la conduite avec facultés affaiblies et facilité par un test routier de dépistage de drogues dans la salive, comme c'est le cas actuellement pour l'alcool dans l'haleine. Il est constaté que la présence de drogues dans la salive correspondait bien au jugement des agents sur la conduite en état d'ébriété. Cela a été confirmé dans une comparaison des analyses de salive et les analyses d'urine chez une population de détenues et chez des conducteurs drogués. Le plus grand avantage de la salive lors des tests routiers est la possibilité que l'échantillon prélevé par le donneur soit sous observation après le moment de l'incident. (A. Negrusz et G .Cooper, 2013)

4-2- **La sueur :**

Est utilisé pour la détection des drogues de l'abus ou des métabolites comprennent amphetamine, méthamphetamine, codéine, morphine, 6-MAM, cocaïne, héroïne, ester méthylique d'ecgonine, benzoylecgonine, et coca éthylène. Le test de la sueur est utilisé dans

le secteur privé pour surveiller la consommation de drogues pendant le traitement de la toxicomanie et dans le système de justice pénale, ainsi que pour les tests de retour au travail et de suivi pour test en milieu de travail, l'augmentation de débit peut influencer la quantité de drogues éliminées dans la sueur, cela est particulièrement utile pour les tests de conformité ou la surveillance de l'exposition à long terme (semaines), ce qui pourrait être souhaitable en période de probation ou de libération conditionnelle. De plus, les drogues ou leurs métabolites de longue durée sont détectables pour plusieurs jours à une semaine après l'utilisation. (A. Negrusz et G. Cooper, 2013)

4-3- Les larmes :

Des échantillons de larmes humaine ont été utilisés pour l'étude pharmacocinétique de certains antihistaminiques, ainsi que des antibiotiques et des antimicrobiens, qui sont administrés pour le traitement de la conjonctivite allergique, des infections oculaires ou cutanées, et des maladies du système respiratoire et des maladies transmises sexuellement. La pharmacocinétique des médicaments antimicrobiens, utilisés dans les cas vétérinaires (p. ex., pradofloxacin et doxycycline), a également été étudiée afin de tirer des conclusions appropriées. Parmi les autres médicaments, des analgésiques [p. ex., acétaminophène (paracétamol)] et des antiépileptiques (p. ex., acide valproïque) ont été déterminés dans les larmes humaines, les concentrations des médicaments trouvés ont été comparées aux résultats correspondants dans des échantillons de sérum ou de plasma. Le but principal des déterminations de ces médicaments était d'évaluer l'applicabilité potentielle des larmes comme matrice alternative pour la surveillance thérapeutique des médicaments, et les études effectuées ont montré de fortes corrélations entre les concentrations de médicaments dans le sang et les larmes. (M.J Bogusz, 2008)

5-Les matrices d'origine maternelle :

5-1- le méconium :

L'analyse du méconium pour la présence de drogues d'abus a gagné en intérêt ces dernières années. Il s'agit maintenant d'une solution de rechange largement acceptée au sang des nourrissons et à l'urine maternelle pour détecter l'exposition prénatale à ces substances.

- Le principal avantage de l'utilisation du méconium pour la détermination de l'exposition fœtale au médicament est sa capacité d'indiquer des antécédents d'exposition potentielle plus longue que l'urine, le méconium peut fournir jusqu'à 20 semaines de « fenêtre » de détection.

- Il a les avantages d'être plus facile à recueillir que le sang et l'urine (M.J Bogusz, 2008).

Pour la collecte d'urine des nouveau-nés, les sacs sont collés aux bébés, et ceux-ci se détachent souvent ou l'urine est renversée. Le méconium est simplement gratté d'une couche et placé dans le flacon de collecte. (A. J. JENKINS, 2008)

- Le méconium n'est pas un échantillon invasif à prélever contrairement au sang ou à la salive du nouveau-né. Comme il s'agit d'un déchet biologique normal, il est recueilli plutôt que jeté.

- Les médicaments sont stables dans le méconium à la température ambiante jusqu'à 2 semaines, ce qui est un avantage important pour les collections de routines dans les grands hôpitaux. . (A. J. JENKINS, 2008)

5-2-Le liquide amniotique :

Préparation minimale de l'échantillon, se prête à la plupart des techniques d'analyse, relativement peu d'interférences, utiles pour déterminer l'exposition intra-utérine aux médicaments à un stade précoce de développement. (A. J. JENKINS, 2008)

5-3-Le lait maternel :

Plusieurs drogues peuvent être déterminées. L'exposition maternelle et néonatale aux médicaments peut être déterminée. (A. J. JENKINS, 2008)

6- L'humeur vitrée :

Est un prélèvement facile à réaliser, dans lequel les molécules présentent généralement une bonne stabilité en respectant certaines conditions de conservation, simple à analyser avec une étape de préparation réduite du fait de sa propreté.

Cette matrice présente un intérêt particulier pour le dépistage en l'absence de sang puisque la plupart des molécules d'intérêt médico-légale ont été identifiées dans l'humeur vitrée (HV). De plus, pour certaines molécules, la fenêtre de détection est étendue par rapport au sang, cet intérêt qualitatif pourrait encore être augmenté en privilégiant des méthodes spécifiquement développées il permettrait d'atteindre des limites de détection plus faible que dans la plupart des autres matrices autopsiques plus complexes. (F. Bévalot, 2016). L'HV est relativement exempte des phénomènes de putréfaction et de distribution postmortem, et peut aussi parfaitement se prêter à la réalisation de criblage toxicologique lorsque le sang ou l'urine sont absents (Bertrand. Brunet, 2012). En toxicologie médico-légale, l'HV est utilisé comme

matrice alternative depuis plus de 50 ans, c'est une matrice de complexité réduite, avec des composés interférents moins endogènes.

Les principaux avantages de l'humeur vitrée par rapport aux autres matrices biologiques sont sa faible teneur en protéines, faible contamination et sa grande stabilité. L'absence d'activité métabolique significative dans l'œil suggère que la concentration du médicament dans l'HV correspond bien à la concentration correspondante dans le sang. Il est souvent le plus approprié pour l'analyse toxicologique en particulier dans les situations de putréfaction ou largement traumatisé. Il a aussi une importance toxicologique particulière dans les cas où des quantités suffisantes de sang ne peuvent être prélevées, car la plupart des composés d'intérêt médico-légal sont également détectés dans l'HV. Un grand nombre de composé peut être détecté dans cette matrice par exemple benzodiazépine, éthanol, opiacé, méthadone, cocaïne, paracétamol,..... (C. Margalho, 2017). Les concentrations de sodium, de calcium, et de chlorure dans l'humeur vitrée pendant l'intervalle postmortem précoce peuvent être utilisées pour estimer les concentrations sériques antémortem. Il est donc important que le fluorure de sodium ne soit pas ajouté aux échantillons nécessitant des produits chimiques vitreux (A. Nergusz et G. Cooper, 2013)

V-Etudes des matrices biologiques alternatives :

1- Phanères : cheveux et ongles

1-1-Cheveux :

a-Physiologie :(plus de détails dans le chapitre III)

Le cheveu n'est pas une fibre homogène mais une structure cylindrique riche en kératine produite au niveau du follicule pilo-sébacé, au niveau d'une invagination de l'épithélium épidermique dans le derme localisé entre 3 et 5 mm sous la surface du cuir chevelu. Chacun de ces follicules représente une unité anatomique constituée de cinq éléments: le bulbe pileux, la racine pileuse, la tige pileuse, la glande sébacée et le muscle horripilateur.

Le cheveu possède une composition chimique complexe, il est composé de 65 à 95 % de protéines (environ 90 % de kératine) de 1 à 9 % de lipides et de 0,1 à 5 % de pigment (les mélanines), ainsi que d'une faible quantité d'éléments traces, de polysaccharides, d'eau (10 à 20 %) et des minéraux inférieurs à 1 %.

Le développement du cheveu est caractérisé par une vitesse de croissance et un cycle pileux puis chute de façon individuelle et cyclique. Le cycle pileux est composé de 3 phases : une phase anagène ou phase de croissance, une phase catagène ou phase de transition et une phase

télogène ou phase de repos. La vitesse de pousse des cheveux est de 0,6 à 1,4 cm par mois en moyenne. (Rolland, 2010)

b-Prélèvement :

Les cheveux sont prélevés sur la zone du vertex postérieur, une mèche d'une centaine de cheveux (équivalente d'un crayon de papier) est suffisante. Il doit être prélevé au plus près de la peau, coupé au ras du cuir chevelu à l'aide d'une paire de ciseaux fins propres, et orienté racine– extrémité par un fil épais à environ 1 cm de la racine. Les cheveux prélevés doivent être mis dans un tube sec ou une enveloppe à température ambiante et accompagnés de toutes les informations utiles concernant le traitement des cheveux du sujet, ainsi que les éventuels traitements médicaux ou une consommation connue de stupéfiant. (N. Milan, 2013).

1-2-Ongles :

a-Physiologie :

L'ongle humain est une structure de kératine qui comprend trois couches:

- la dorsale (couche supérieure);
- la couche intermédiaire dérivée de la matrice des ongles;
- la couche ventrale provenant du lit de l'ongle. (K. A Madej, 2010)

Les ongles poussent dans deux directions différentes, longueur et épaisseur. (K. A Madej, 2010). La prolifération de la matrice implique une croissance distale des ongles au taux de 0,1 mm/jour (0,3 cm par mois) pour les ongles des doigts et de 0,03 à 0,04 mm/jour (0,1 cm par mois) pour les ongles des orteils, donc un renouvellement complet d'un ongle de main en 4 à 6 mois et celui d'un ongle de pied en 12 mois environ. Les facteurs physiologiques (comme l'âge, sexe, grossesse....) ou pathologiques peuvent modifier cette vitesse (Lebrun-Vignes Bénédicte, 2011). Le taux d'épaississement est constant et lent, avec une valeur moyenne de 0,027 mm/mm de longueur. L'épaississement est causé par la formation de couches ventrales par le lit de l'ongle pendant la croissance de la lunule (la partie proximale blanchâtre et lunaire des ongles) à la marge, formé à la 20^e semaine de la vie fœtale. (K. A Madej, 2010)

Les ongles sont constitués par de la kératine et des molécules de cystéine relier entre elles par des ponts disulfures responsables de la solidité de la structure. Ils sont résistants à l'action des acides, les ponts disulfures peuvent être cassés par des solutions alcalines fragilisant les ongles. (L. Labat, 2010)

b-Prélèvement :

La procédure d'échantillonnage des ongles est assez simple. Les échantillons de clous sont habituellement obtenus en coupant l'excédent de la plaque à ongles à l'aide de coupe-ongles cosmétiques. Les échantillons de chaque personne examinée sont regroupés et entreposés (p. ex., dans des sacs de plastique scellés) à la température ambiante avec une exposition limitée à la lumière jusqu'à ce qu'ils soient nécessaires pour l'analyse. (K. A Madej, 2010)

2-L'air expiré :

2-a-Physiologie :

Bien que l'intérêt pour l'analyse de l'haleine expirée remonte actuellement aux années 1970, la principale application de la mesure des composantes volatiles de l'haleine est le dépistage de l'alcool. Cependant, des travaux récents sur le condensat expiré (EBC) comme matrice innovante ont montré que des composés non volatiles sont présents dans la respiration ; en fait des composés endogènes de faible poids moléculaire, ainsi que des drogues thérapeutiques et illicites sont présents comme composants non volatils dans l'haleine humaine (Popov, 2011;K. Wolf et coll, 2017)

2-b-Prélèvement :

L'ExaBreath est un outil qui fixe sur un filtre les particules d'aérosol de l'air expiré. Deux minutes de cycles d'inspiration à travers l'ExaBreath sont suffisantes. Le système est ensuite envoyé au laboratoire, où pourront être libérées les molécules d'intérêt avec du méthanol. (P.Kintz, 2020)De plus, l'air expiré peut être recueilli avec le DrugTrap dispositif, un filtre piège les aérosols (contenant les xénobiotiques) de l'air expiré. Le recueil est terminé après 20 inspirations, correspondant à environ 2 litres d'air passant à travers le filtre (durée 1 à 2 min). Après le recueil, le DrugTrap est scellé et envoyé au laboratoire (P.Kintz, sd)

L'EBC est une méthode d'échantillonnage qui recueille l'eau volatile, non volatile et condensée de la respiration expirée. Dans cette technique, un piège à froid est utilisé pour recueillir tout ce qui sort dans le souffle expiré après le passage de la cavité buccale (Kuban et Foret, 2013). Le condensat obtenu est une solution aqueuse composée principalement de vapeur d'eau condensée mélangée à d'autres composants volatils et non volatils. Un temps d'échantillonnage de 10 minutes est souvent appliqué et des instruments fixes et portatifs plus sophistiqués sont utilisés pour la procédure de collecte. Des systèmes d'échantillonnage commerciaux sont maintenant disponibles et sont utilisés pour dépister les abus de drogues

dans des études de recherche (Kuban et Foret, 2013 ; Konstantinidi et al, 2015). Les instruments fixes ont des systèmes de refroidissement intégrés et peuvent recueillir séparément la fraction EBC qui transporte les biomarqueurs de l'espace mort de l'instrument. Les collecteurs portatifs dépendent du refroidissement externe avant que l'échantillonnage puisse avoir lieu. La mise en place de tests EBC de routine a été retardée en raison de l'absence de mesures normalisées pour le prélèvement d'échantillons, ce qui a été suggéré comme une limite importante (Konstantinidi et al, 2015 ; K. Wolf et coll, 2017)

3- Matrices d'origine maternelle :

3-1-Liquide amniotique :

Le liquide amniotique est un élément essentiel pour le développement du fœtus, le sac amniotique contenant l'embryon se forme déjà 12 jours après la conception et se remplit rapidement, le volume du liquide amniotique augmente progressivement au cours de la grossesse. (L. Thadikkaran, 2007).

a-Physiologie :

Le liquide amniotique est composé de 98 % d'eau avec une densité moyenne de 1,006 et un ph entre 7,10 et 7,20. La composition du liquide amniotique est proche de celle du sérum maternel et fœtal en début de grossesse puis à partir de la 18-20 semaine d'aménorrhée (SA), la kératinisation empêche le passage libre à travers la peau fœtale et la production urinaire devient prépondérante, influençant fortement sa composition.

L'osmolalité décroît alors passant de 278 mOsm/kg à 258 mOsm/kg à terme, ceci est lié au fait que le rein fœtal a un faible pouvoir de concentration en particulier en début de grossesse, avec pour conséquence des urines fœtales très hypo osmolaires par rapport au plasma (100 mOsm/l). Ainsi, le taux du sodium dans le liquide est de 116 mmol/l, alors qu'il est de 142 mmol/l dans le plasma fœtal et de 40 mmol/l dans les urines. Les concentrations de sodium et de chlore diminuent au cours de la grossesse alors que celles de l'urée et de la créatinine augmentent respectivement de 70 % et de 250 %. La composition électrolytique et l'osmolalité du liquide amniotique participent à la régulation du volume de ce dernier.

Tous les acides aminés sont présents dans le liquide amniotique, plusieurs familles d'enzymes ont été mises en évidence dans le liquide amniotique comme la diamine oxydase, enzyme hépatique de dégradation des acides aminés et l'acétylcholinestérase. Le liquide amniotique normal contient des enzymes digestives dont l'évolution du profil dépend de la physiologie digestive fœtale. De nombreuses hormones sont également présentes dans le liquide amniotique : la prolactine, qui aurait un rôle dans la régulation du volume du liquide

amniotique, augmente à partir de la 14^e SA pour atteindre un plateau de la 18^e à 28^e SA, et diminue ensuite jusqu'aux 36 SA. Les facteurs de croissance, comme l'epidermalgrowth factor (EGF) et insulingrowth factor (IGF), sont très nombreux.

Enfin, le liquide amniotique contient de nombreux types cellulaires en suspension. En premier lieu, la présence de cellules fibroblastiques permet d'accéder au patrimoine génétique du fœtus et de réaliser un diagnostic prénatal; la quantité de cellules présentes dans le liquide amniotique augmente constamment avec le terme. En revanche, le maximum de cellules vivantes est recueilli entre la 16^e et 20^e SA. (D. Mahiau-Caputo, 2008). En fin de grossesse, il est hypotonique et riche en cellules de desquamation du fœtus (vernix caseosa), en lanugo (duvet fœtal), en mucine et parfois en méconium révélant un problème malformatif digestif ou une souffrance fœtale. Il présente également des propriétés pro coagulantes, et il est riche en prostaglandine PGE2 dès le début de la grossesse. (G. Tramoni, 2006).

b-Prélèvement :

Le prélèvement du liquide amniotique est indolore, très rapide et sans anesthésie. Il se fait à travers la paroi de l'abdomen et de l'utérus et en évitant le placenta et le fœtus en utilisant une grosse aiguille montée sur une seringue, avec une surveillance échographique afin de réduire le risque d'endommager le fœtus, permettant d'obtenir quelques millilitres du liquide amniotique (5-30ml) (M.G. Forest et coll, 2002 ; A.Negrusz et G.Cooper, 2013). Le prélèvement ne demande pas d'hospitalisation mais la femme doit en principe se reposer pendant les 24 heures qui suivent. (M.G. Forest et coll, 2002).

3-2-Le lait maternel :

a-Physiologie :

Pendant la grossesse, l'œstrogène et la progestérone, sécrétés dans les ovaires et le placenta, provoquent le développement et l'activité des glandes productrices de lait dans le tissu adipeux des seins. L'hormone hypophysaire prolactine stimule la production de liquide (600-1000 mL/jour) par les cellules sécrétant le lait. La contraction des cellules myoépithéliales entourant les alvéoles permet d'excréter le lait. Le colostrum, un liquide de pré-lait blanc à jaune crémeux, peut être excrété par les mamelons au cours du dernier trimestre de la grossesse et peu après l'accouchement.

De nombreux médicaments sont excrétés dans le lait maternel et la littérature médicale contient de nombreuses citations de la présence de drogues dans cette matrice. Les médicaments qui sont fortement liés aux protéines ne peuvent pas facilement passer dans le

lait, mais les graisses émulsionnées contenues dans le lait peuvent concentrer des médicaments hautement liposolubles. La forte teneur en lipides et les agents émulsifiants naturels présents dans le lait maternel signifient qu'un certain prétraitement de l'échantillon est souvent nécessaire.(A.Negrusz et coll, 2013).

b-Prélèvement :

Le liquide est recueilli au moyen d'un dispositif spécial comme une pompe à lait maternel, (A. J. JENKINS, 2008) ensuite des techniques analytiques bien établies peuvent être utilisées pour détecter les abus de médicaments notant que cette matrice n'est pas homogène. (A.Negrusz et coll, 2013).

3-3-Le méconium :

a-Physiologie :

Le méconium est la première matière fécale transmise par un nouveau-né, et est généralement caractérisé par sa couleur noir foncé et l'absence de l'odeur des matières fécales régulières. Il se forme entre la 12e et la 16e semaine de gestation, puis s'accumule et se confine dans les intestins du fœtus jusqu'à la naissance. Le méconium est une matrice complexe comprenant de l'eau, des mucopolysaccharides, des sels biliaires, des acides biliaires, des cellules épithéliales et d'autres lipides, ainsi que des résidus de liquide amniotique avalé. Son analyse permet de détecter des drogues ou d'autres substances auxquelles le fœtus a été exposé dans l'utérus au cours des 20 dernières semaines de gestation (K. A Madej, 2010). Il fournit des renseignements plus complets que l'urine néonatale ou le sang du cordon et permet d'avoir une idée sur la chronicité de l'exposition aux médicaments (Gray et Huestis 2007; Lozano et al. 2007 ; A.Negrusz et coll, 2013).

b-Prélèvement :

L'échantillonnage du méconium est facile et totalement non invasif. Il est obtenu en raclant le contenu (minimum 0,5 g) de la couche souillée dans un contenant de collecte spéciale. Les études indiquent que les médicaments sont stables dans un tel contenant jusqu'à deux semaines dans la température ambiante et pendant au moins un an en congélateur. Il est généralement recueilli 1 à 5 jours suivant la naissance. (K. A Madej, 2010)

Une question qui devrait être prise en compte lors de la collecte du méconium est la possibilité de contamination de l'urine, qui est susceptible de se produire lorsqu'un nouveau-né évacue la drogue contenue dans l'urine dans une couche souillée de méconium (K. A

Madej, 2010). Comme l'échantillon est complexe et non homogène donc les échantillons disponibles doivent être prélevés et homogénéisés avant l'analyse. (A. Negrusz et coll, 2013).

4-Sécrétions glandulaires :

4-1- La salive :

a-Physiologie :

La salive est le produit de la sécrétion des glandes salivaires de la tête et de la bouche. La salive est composée de 99 % d'eau, des électrolytes (sodium, potassium calcium, tampon HCO_3^-), des lipides (présentés à 99 % par le cholestérol et ses esters les mono- di et tri glycérides et des acides gras libres) et de protéines (0,3 %) (A. Negrusz et G. Cooper, 2013) (principalement de l'amylase), et 0,26 % de mucines. La salive humaine contient deux mucines : glycoprotéine muqueuse oligomère et glycoprotéine muqueuse monomérique. Les stimuli mécaniques produisent de la salive séreuse; les stimuli alimentaires produisent de la salive plus épaisse contenant des mucosités. En général, la stimulation parasympathique de la glande parotide conduit à des taux élevés de sortie de fluide tandis que la stimulation sympathique de la glande sublinguale conduit à des niveaux élevés de sécrétion de protéines. (A J. Jenkins, 2008)

b-Prélèvement :

Le prélèvement de la salive est réalisé le matin avant toute alimentation, après rinçage de la bouche avec de l'eau distillée. Appuyer un nouveau volume d'eau et placer le pendant 2 minutes dans la bouche fermée puis cracher le tout dans des tubes en poly propylène (Laurence Labat, 2010). Il peut être effectué aussi par une coton tige ou un matériau absorbant attaché à un bâton dans la bouche pendant quelques minutes (Fendrich et coll, 2001 ; (P. Kintz, 2012)

4-2-La sueur :

a-Physiologie :

La composition de la sueur est similaire à celle du plasma sauf que la sueur ne contient pas de protéines. La sueur est un filtrat du plasma qui contient des électrolytes (comme le potassium, le sodium et le chlorure), des déchets métaboliques tel que l'urée et l'acide lactique, elle possède également les odeurs des 2méthyl phénoletle 4 méthyl phénol. La production de sueur a lieu dans les glandes sudoripares (A. Negrusz et G. Cooper, 2013). Le taux maximal

de sueur produite par le corps humain peut atteindre 2 L/h chez les sujets moyens et jusqu'à 4 L/h chez les athlètes entraînés. La quantité sécrétée peut être influencée par divers facteurs tels que le stress, l'exercice physique, la température et l'état émotionnel. (A. J. JENKINS, 2008)

b-Prélèvement :

Diverses méthodes ont été utilisées pour la collecte de la sueur. Ces approches ont inclus la contrainte thermique suivie par la collecte de la sueur avec de la gaze sèche recouverte de plastique imperméable et l'utilisation de tampons imprégnés de sel. D'autres dispositifs de collecte de sueur ont inclus l'utilisation de coton-tige, chemises en polyvinyle, taches de transpiration des vêtements, les lingettes pour médicaments, et des dispositifs plus élaborés comme un produit chimique transcutané, dispositif de collecte qui incorporait un dispositif semblable à un pansement avec de l'eau ou un gelmatrice pour absorber les composés et empêcher la rétrodiffusion de ces composés dans la peau. D'autres dispositifs ont incorporé la pilocarpine pour stimuler la production localisée de sueur, et au moins un dispositif a incorporé des électrodes qui distribuaient de la pilocarpine pour l'ionophorèse. (A. J. JENKINS, 2008)

La sueur est habituellement recueillie à l'aide d'un timbre adhésif absorbant placé à la surface de la peau propre en essuyant la peau avec un tampon ou une gaze, les plaques sont généralement portées pendant plusieurs jours sur la partie externe du bras ou du dos. (A. Negrusz et G. Cooper, 2013).

4-3-Larmes :

a-Physiologie :

Les larmes sont sécrétées par les glandes lacrymales principales, situées à la partie supéro-externe de l'orbite, et drainées par les canaux excréteurs vers le cul-de-sac conjonctival supérieur. Les larmes s'étalent en très mince pellicule sur la surface cornéo-conjonctivale, formant ainsi le lac lacrymal puis se rassemblent vers l'angle interne des paupières, s'écoulent par le canal lacrymal supérieur et inférieur vers le sac lacrymal, puis vers le canal lacrymo-nasal qui débouche dans les fosses nasales. Il y a également une résorption par la cornée et la conjonctive ainsi qu'une forte élimination des larmes par évaporation.

Les larmes sont constituées de trois couches : la couche lipidique, la plus superficielle et donc en contact avec l'air extérieur. Elle vient des glandes sébacées intra palpébrales. Elle a un rôle de protection et diminue la vitesse d'évaporation des larmes, la couche aqueuse, est sécrétée

par les glandes lacrymales et régulée par le système neurovégétatif (stimulation parasympathique) et certaines hormones (stimulation par les androgènes et inhibition par les œstrogènes), c'est la couche la plus épaisse. Et la couche mucinique au contact du globe oculaire rend l'épithélium cornéen hydrophile, équilibre la tension superficielle des larmes et piège les bactéries et les corps étrangers par les cellules à mucus situées sur toute la surface de la conjonctive. (F. Bisch, 2010).

b-Prélèvement :

L'échantillonnage des larmes est le principal problème pour produire des résultats analytiques précis et reproductibles. Les deux principales procédures de collecte des larmes sont : l'échantillonnage direct et indirect.

L'échantillonnage direct consiste à recueillir les larmes par capillarité et nécessite une stimulation préalable, qui facilite le retrait des sécrétions lacrymales et peut être mené de trois façons principales :

- a) les produits chimiques (p. ex., les vapeurs d'agents liquides, comme l'éthanol, formaldéhyde ou ammoniac);
- b) stimuli physiques (p. ex., lumière intense);
- c) stimuli physiologiques (p. ex., éternuements ou bâillements)

L'échantillonnage indirect, autre méthode qui consiste à instiller diverses quantités de liquide (p. ex., solution saline de 20 à 100 µL), mais cette technique est plutôt limitée aux examens qualitatifs. (K. A Madej, 2010)

5-Humeur vitrée :

5-a-Physiologie :

L'humeur vitrée (HV) est un liquide gélatineux clair qui remplit le corps vitré du globe oculaire. Ce liquide pèse environ 4 g, est composé principalement d'eau (99 %) et a un pH de 7,5 (C. Margalho, 2017). L'humeur vitrée représente 90 % du volume de l'œil et c'est essentiel à maintenir en place la rétine et à absorber les chocs. L'humeur vitrée ne doit pas être confondue avec l'humeur aqueuse contenue dans la chambre antérieure de l'œil entre la cornée et le cristallin (Bertrand. Brunet, 2012). L'HV a un volume moyen de 4 ml (Bévalot, 2015), elle est produite par des cellules rétinienne (C. Margalho, 2017), elle contient très peu de cellules (seuls quelques phagocytes et hyalocytes), et n'est pas vascularisée. La

composition de l'HV comprend aussi des électrolytes tel que le sodium, le potassium, le chlore, des acides (ascorbate, lactate), du phosphate, des sucres comme le glucose (F.Bévalot, 2015), l'urée et créatinine dont les concentrations sont similaires à celles trouvées dans le sérum et une faible concentration en protéines (plus de 1205 protéines ont été identifiées dans ce fluide. (C. Margalho, 2017).

Le composant responsable de l'aspect gélatineux est l'acide hyaluronique avec les fibres de collagène, cette association lui a donné une viscosité de 2 à 4 fois plus élevée que celle de l'eau, les substances fortement liées aux protéines n'auraient pas une concentration significative dans l'humeur vitrée, et les composés non fortement liés aux protéines auraient des concentrations significatives dans cette matrice. Avec l'âge il se produit un changement dans sa composition qui conduit à une liquéfaction progressive. (C. Margalho, 2017).

5-b-Prélèvement:

Une aspiration directe de l'humeur vitrée à l'aide d'une seringue hypodermique pour éviter le prélèvement des cellules épithéliales de la rétine ou de l'iris. L'aiguille doit être placée dans le globe central et aspirer doucement au centre de l'œil. Le volume prélevé est limité à 2 ml par œil, le volume prélevé peut-être remplacé par de l'eau ou du sérum physiologique pour conserver l'aspect de l'œil. (Bévalot, 2015).

VI- Critères pour le choix d'un milieu alternatif :

Les matrices alternatives, autres que le sang et les urines, s'imposent pour différentes raisons :

- Plus grandes précision recherchée.
- Obligation d'être non invasif.
- Possibilité d'analyse rétrospective.
- Voie d'élimination connue et reconnue fiable, etc (M. Riffi, 2013)

Le choix de la matrice pour effectuer une recherche des xénobiotiques est influencé par une variété de facteurs tels que :

1-Délai de détection/ délai des effets :

Il s'agit là d'un critère très important pour le choix des milieux biologiques à utiliser et il est intéressant de comparer les fenêtres de détection avec la durée des effets.

Le tableau (ci-dessous) indique la durée des effets et celle pendant laquelle les différentes drogues peuvent être retrouvées par méthodes immuno-chromatographiques de dépistage.

Tableau5: Comparaison des durées d'effet et des fenêtres de détection des drogues entre les urines et la salive.(M. Riffi, 2013)

Drogue	Durée d'effet	Fenêtre de détection	
		Urines	Salive
Cannabis	2 à 12 h	1 à 30 jours, selon la régularité de la consommation	3 à 6 h
Héroïne	6 à 12 h	1 à 3 jours	Morphine < 12h 6 MAM < 4 h
Ecstasy-amphétamine	4 à 6 h	1 à 3 jours	17 à 24 h (selon le produit)
Cocaïne	1 à 4 h	1 à 3 jours	4 à 12 h

On peut observer sur ce tableau que les fenêtres de détection dans les urines sont toujours supérieures, voire très largement supérieures à la durée des effets. En revanche pour la salive, la durée des effets est le plus souvent très proche de la fenêtre de détection.

En conséquence, un test salivaire positif indique qu'il s'agit d'une consommation récente et surtout que le sujet est sous l'influence de la drogue au moment du prélèvement tandis qu'un test urinaire positif ne permettra que de mettre en évidence un usage de drogue sans pouvoir indiquer si le sujet est sous l'influence du produit ou non au moment du prélèvement.

Le dépistage urinaire permettra donc seulement de dépister les sujets potentiellement à risque.(M. Riffi, 2013)

2-Modalités de prélèvement (facilité de prélèvement de l'échantillon) :

Sous cet angle, plusieurs facteurs sont à considérer, à savoir :

- Invasivité
- Risques d'infections, de complication et traumatismes.
- Protection de la vie privée.
- La facilité et la rapidité.
- Formation du personnel (médical /non médical)
- Risque de falsification, de contamination.
- Volume de l'échantillon. (M. Riffi, 2013)

3- Des considérations purement analytiques parmi lesquelles on peut citer :

- Résultats qualitatifs ou quantitatif.
- Fenêtre de détection.
- La concentration du toxique/accumulation dans les fluides biologiques.
- La molécule mère ou métabolite(s).
- Stabilité de toxique(s).
- Condition de stockage du fluide biologique.
- Prétraitement de l'échantillon.
- Limitations de la matrice.
- Risque d'interférences.
- Variations inter et intra-individuelles de la matrice.
- Praticabilité (utilisation de procédures analytiques existantes).
- Rapidité d'analyse.
- Exigences de formation du personnel.
- Fiabilité du seuil de positivité.(M. Riffi, 2013)

VII- Milieux alternatifs en post mortem :

À côté des prélèvements obligatoires lors de l'autopsie (sang périphérique et le sang cardiaque, les urines, le contenu gastrique, la bile et les viscères), existent des prélèvements alternatifs comme les prélèvements nasopharyngés, cheveux et angles, l'humeur vitrée, les liquides de putréfaction, parfois même les larves ou insectes retrouvés sur les corps putréfiés et enfin les os lorsque subsiste uniquement le squelette. (Alvarez, 2012)

1-Mécanisme de redistribution des xénobiotiques en post mortem :

Il est actuellement admis que la concentration sanguine *post mortem* d'un xénobiotique n'est pas systématiquement le reflet de sa concentration sanguine *ante mortem*. Ce constat repose sur de très nombreuses observations dans lesquelles soit l'estimation des doses administrées à partir de la concentration *post mortem* est totalement irréaliste, soit les concentrations mesurées dans le sang cardiaque sont significativement différentes de celles mesurées dans les vaisseaux périphériques, soit enfin les concentrations mesurées au niveau d'un même site de prélèvement sanguin varient au cours du temps (levée de corps, autopsie). Les concentrations obtenues dans les autres milieux biologiques (urine, contenu gastrique, bile, viscères) sont également soumises à ces variations. Ces phénomènes, regroupés sous le terme de *redistribution post mortem*, peuvent rendre très délicate l'interprétation des résultats, d'autant plus qu'ils concernent très fréquemment des molécules couramment rencontrées en toxicologie médico-légale, telles que l'éthanol, les amphétamines, la cocaïne, ou les antidépresseurs tricycliques. (B.Brunet, 2012)

***Source de redistribution :**

Chez le vivant, les xénobiotiques se concentrent dans certains organes, ces organes « réservoirs » peuvent être des organes creux tels que le tractus gastro-intestinal ou le myocarde, et des viscères à fort pouvoir de concentration tels que les poumons ou le foie. Après le décès, les molécules présentes dans ces organes vont diffuser vers les structures anatomiques de voisinage selon deux mécanismes distincts : *diffusion de contiguïté*, transpariétale, vers les différents organes de voisinage, et *diffusion anatomique* via les structures vasculaires. Ces mécanismes de redistribution débutent dès les premières heures après le décès. (B.Brunet, 2012)

Depuis l'estomac :

La plupart des molécules présentes dans l'estomac lors du décès peuvent ainsi se redistribuer par voie anatomique vers l'aorte abdominale, via le tronc cœliaque et l'artère mésentérique supérieure, et vers la veine cave inférieure via les veines hépatiques et la veine porte. La diffusion transpariétale affecte essentiellement la base pulmonaire gauche, les cavités cardiaques gauches, et le lobe hépatique gauche. Ce phénomène a été décrit pour l'éthanol, l'amitriptyline et la fluoxétine. Des travaux très récents suggèrent un phénomène similaire pour les ions cyanures, en particulier lors d'intoxications volontaires par voie orale.

Enfin, la régurgitation du contenu gastrique dans les voies aériennes peut entraîner le passage de certaines molécules vers la circulation pulmonaire. Deux mécanismes - toujours précoces - semblent pouvoir être distingués : l'inhalation de tout ou partie du contenu gastrique lors du processus agonique, et la régurgitation passive du contenu gastrique dans les voies aériennes supérieures lors de la relaxation *post mortem* du sphincter œsophagien. Le second phénomène, contemporain de l'installation de la rigidité cadavérique, serait favorisé par la manipulation du corps et la mise en décubitus dorsal. Il en résulte une élévation des concentrations dans les gros vaisseaux du médiastin, de l'aorte et de la veine cave supérieure. Ceci a été clairement mis en évidence pour l'éthanol, le paracétamol et le dextropropoxyphène. (B.Brunet, 2012)

Depuis le poumon :

Les poumons sont également une source de redistribution post mortem, in vivo, ils reçoivent tout le flux sanguin issu du ventricule droit. Certaines molécules ont tendance à s'accumuler dans le parenchyme pulmonaire. Il s'agit essentiellement des bases faibles lipophiles ayant un pka proche de 8, telles que les antidépresseurs tricycliques, les amphétamines, la méthadone ou la chlorpromazine. En post mortem, la redistribution de ces molécules vers la circulation pulmonaire est intense et rapide, dès la deuxième heure après le décès. Ce phénomène entraîne une augmentation des concentrations dans les cavités cardiaques et les vaisseaux thoraciques, en particulier l'aorte et les cavités cardiaques gauches. Ceci a été rapporté en particulier pour l'amphétamine et la méthamphétamine ou la lidocaïne. Enfin, une diffusion pourrait s'effectuer des poumons vers le foie vraisemblablement par l'intermédiaire des liquides pleural et péritonéal qui s'écouleraient à travers le diaphragme.(B.Brunet, 2012)

Depuis le myocarde :

Le myocarde concentre in vivo un certain nombre de molécules. Il s'agit principalement de médicaments à visée cardiologique, tels que les digitaliques, les quinidiniques ou les inhibiteurs calciques. Ces molécules présentent un rapport de concentrations [myocarde]/[plasma] parfois très élevé (de l'ordre de 30/1 pour la digoxine). Lors du décès, ces molécules sont relarguées dans le sang cardiaque où leur concentration s'élève alors considérablement. Une augmentation plus modérée mais constante est également retrouvée au niveau de la veine sous-clavière, ce qui est un argument pour refuser ce site comme site de prélèvement sanguin périphérique. Ce mécanisme a également été mis en évidence pour d'autres molécules, telles que la morphine, la méthamphétamine, le propoxyphène,

l'imipramine, l'amitriptyline, la doxépine, la maprotiline ou le métoprolol. Le sang cardiaque peut donc faire l'objet d'une redistribution de molécules provenant de l'estomac, du parenchyme pulmonaire, du parenchyme hépatique et enfin du myocarde lui-même.(B.Brunet, 2012)

Depuis le foie :

Les xénobiotiques concentrés dans le parenchyme hépatique au moment du décès peuvent passer dans la circulation cave inférieure par le système porte. De là, ils peuvent diffuser de proche en proche vers les cavités cardiaques droites et les vaisseaux pulmonaires. Une redistribution vers le sang veineux périphérique, bien que mineure, a également été décrite, à partir de la veine cave inférieure. On peut également observer une redistribution par contiguïté vers l'estomac, mais ce phénomène semble moins intense que le précédent. Enfin, compte tenu des rapports anatomiques étroits entre le foie et l'estomac, les xénobiotiques présents dans l'estomac lors du décès peuvent pénétrer le parenchyme hépatique soit par diffusion passive, soit par l'intermédiaire de la circulation veineuse hépatique. (B.Brunet, 2012)

1- Vers le tissu adipeux :

Contrairement aux phénomènes précédemment décrits, le tissu adipeux peut faire l'objet de phénomènes de redistribution depuis la circulation sanguine. En effet, la vascularisation de ces tissus étant faible, le décès toxique survient généralement avant l'équilibre des concentrations entre le sang et le tissu graisseux. Certaines molécules, essentiellement des molécules lipophiles, continuent alors à diffuser vers les tissus adipeux en période post mortem. Ce mécanisme a été décrit pour les antidépresseurs tricycliques, les anesthésiques et surtout les volatils. Il en résulte une diminution des concentrations sanguines avec pour corollaire une augmentation des concentrations tissulaires.(B.Brunet, 2012)

***Remarque :**

À l'échelon cellulaire, des modifications intervenant très précocement après le décès vont également contribuer à faire varier les concentrations des xénobiotiques. Il s'agit essentiellement de **la lyse cellulaire**, qui va entraîner une équilibration des concentrations entre les secteurs intracellulaire et extracellulaire, et de **la putréfaction**, qui va engendrer une néoformation et/ou une dégradation de certaines molécules.(B.Brunet, 2012)

2-Conséquences de la redistribution post mortem pour l'interprétation des résultats :

L'ensemble des mécanismes et phénomènes décrits ci-dessus (redistribution post mortem) doivent amener le toxicologue à interpréter les résultats d'analyses des prélèvements post mortem avec la plus grande prudence. Deux points critiques sont à souligner :

-il faut essayer de connaître le délai au moins approximatif entre la mort et le moment du prélèvement ;

-il faut s'assurer de la localisation exacte du prélèvement, en particulier lorsqu'il s'agit de sang, qui est le milieu le plus sujet à des variations entre sites.

Le prélèvement idéal serait un échantillon de sang périphérique prélevé si possible au niveau d'un membre inférieur après ligature de la veine en amont. Cette dernière précaution n'a pas forcément une importance cruciale comme le prouve une publication récente comparant les concentrations issues de prélèvements fémoraux avec ou sans ligature. Si le prélèvement est fait sans ligature, le volume doit tout de même être limité afin d'éviter un effet de siphon entraînant du sang de la veine cave inférieure. Un prélèvement de sang de 5 ml avec les techniques actuelles doit être suffisant pour faire une analyse toxicologique complète.

Malheureusement un prélèvement de sang périphérique n'est pas toujours possible en raison du délai post mortem ou des circonstances de la mort (incendie, cadavre en décomposition avancée).

Lorsque divers prélèvements sont possibles il peut être utile de multiplier les dosages dans les différents échantillons de sang, liquides biologiques (humeur vitrée, bile, urine) et tissus prélevés. L'interprétation ne sera alors difficile qu'en cas de discordance sur les concentrations entre les sites de prélèvement. Si les différences de concentrations restent modérées et dans la même zone (thérapeutique, toxique ou létale), l'interprétation sera simple. Lorsque les concentrations sont nettement discordantes et de manière à amener une interprétation différente des causes de la mort, une recherche bibliographique s'impose pour recueillir un maximum de valeurs de références sur des cas similaires. Chaque cas étant unique et les cas publiés plus ou moins bien documentés, les informations recueillies sur place ou par le légiste sont essentielles : position du corps, lieu de découverte, température, état de décomposition, régurgitation éventuelle. Une bonne connaissance de toutes ces données facilitera grandement l'interprétation.

L'humeur vitrée, le cerveau, le muscle ou la moelle osseuse peuvent être des matrices alternatives intéressantes, mais les résultats obtenus seront difficilement interprétables car il existe souvent peu de données pour ces matrices dans la littérature.(B.Brunet, 2012)

3-Milieus alternatif et redistribution post-mortem :

Les milieux alternatifs, réputés moins sensibles aux phénomènes de redistribution, il s'agit essentiellement de l'humeur vitrée, des cheveux, et du liquide céphalo-rachidien. Ils ont également été proposés pour contourner les difficultés d'interprétation. L'humeur vitrée est un milieu facile à collecter qui présente l'intérêt majeur d'être protégé des proliférations bactériennes et fongiques liées à la putréfaction, par une barrière anatomique, la sclérotique. L'humeur vitrée est ainsi considérée depuis longtemps comme un milieu de choix pour distinguer en période post-mortem l'éthanol d'origine exogène de l'éthanol formé par la fermentation bactérienne. (A-L.Pélissier-Alicot, 2001)

Les cheveux doivent être impérativement prélevés, et même si leur analyse ne peut contribuer à documenter un phénomène de néoformation elle s'avère essentielle à l'interprétation des concentrations sanguines en documentant le caractère ponctuel ou répété d'une exposition ou l'existence d'une tolérance à certaines molécules. (A-L.Pélissier-Alicot, 2016)

Chapitre III : Intérêt des cheveux dans l'analyse toxicologique

I-Généralités sur les cheveux :

1-Anatomie et physiologie :

Les cheveux se composent de cinq composants morphologiques et chimiques différents (cuticule, cortex, médullaire, mélanine et complexe de membranes cellulaires). Il est constitué essentiellement par des protéines dont la kératine (65 à 95 %), l'eau (15 à 35 %), les lipides (1 à 9 %) et la teneur en minéraux des cheveux varie de 0,25% à 0,95% (A.Negrusz et G. AA Cooper, 2013 ; Jenkins AJ,2008 ; C.Margalho , 2017).Les cheveux recouvrent presque toute la surface du corps humain, à l'exception de la surface extérieure des lèvres, des paumes des mains, de la plante des pieds et certaines parties des organes génitaux externes (B.Buffoli et coll, 2014). L'objectif principal des poils du corps est de protéger la surface de la peau contre les blessures et aider à réguler la température corporelle. L'apparence des poils du corps varie de poils fins presque incolores trouvés sur la plupart des parties de la surface du corps à des poils plus épais et plus longs sur le cuir chevelu. (P.Kintz et coll, 2015)

* **La tige du cheveu** : elle est visible au-dessus de la surface de la peau, est constituée de cellules kératinisées entièrement compressées. La cuticule formant une couche protectrice extérieure (MR.Harkey, 1993), elle est sensible aux dommages causés par un certain nombre de sources, notamment l'exposition à la lumière ou à la chaleur, les traitements chimiques, y compris le blanchiment et la permanente (friser et fixer les cheveux), ainsi que les dommages physiques. Par conséquent, avec le temps, la surface des cheveux peut être compromise en exposant les couches internes et c'est particulièrement évident dans les extrémités distales des cheveux. (Kintz, 2015)

La structure intérieure de la tige capillaire contient des cellules corticales formant le cortex qui englobe la majeure partie de la tige du cheveu et contient également la cuticule où la mélanine, le pigment principal dans les cheveux, est situé. La région la plus interne du poil dans le cortex est la médullaire et peut être continue le long de la longueur de l'arbre, discontinue, ou complètement absent.

* **Le follicule pileux** :Le nombre de follicules pileux chez les adultes est estimé à environ 5 millions, dont 1 million sur la tête (Harkey et Henderson, 1989). Les follicules pileux sont incrustés dans l'épithélium épidermique de la peau, à environ 3 à 4 mm sous la surface de la

peau, (A. Negrusz et G. AA Cooper ; 2013) et ils constituent la structure clé responsable de la croissance des cheveux. (P.Kintz et coll ,2015). (Figure 1)

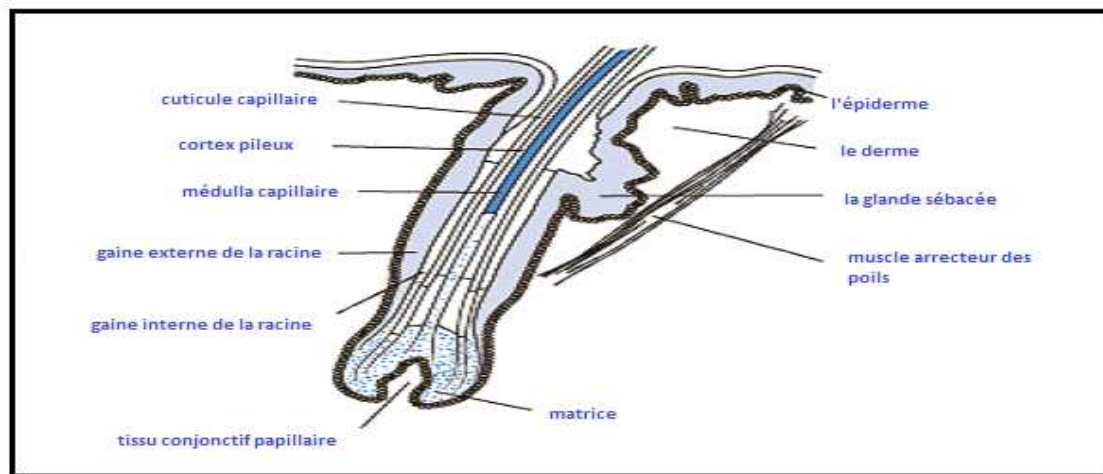


Figure 1 : Coupe transversale à travers les follicules capillaires. (A. Negrusz et G. AA Cooper, 2013)

Les principales structures du follicule pileux comprennent la gaine radiculaire externe (GRE), la gaine radiculaire interne (GRI), et le bulbe radiculaire. La GRE forme une zone bombée à la base du muscle arrecteur du poil, près de la glande sébacée, et on croit qu'il est la source de cellules souches essentielles au développement et à la pigmentation des follicules pileux (Paus R et coll, 2008). La GRI fournit un soutien pour les cheveux en croissance produisant du matériel de liaison intracellulaire et dirigeant les cheveux en croissance vers le haut (Randall VA, Botchkareva NV, 2009). Les cellules situées dans la région inférieure du bulbe radiculaire, la matrice, sont mitotiquement actives tandis que la région supérieure du bulbe radiculaire contient la région kératogène. À la base du bulbe racinaire se trouve la papille cutanée qui contient l'apport sanguin. La GRI se dégrade lorsque les cheveux en croissance se déshydratent et que la kératinisation a lieu (R.Kronstrand et K.Scott; 2007). Près du follicule pileux se trouvent les glandes sébacées et sudoripares apocrines et eccrines. Les glandes sébacées et apocrines sécrètent directement dans le follicule. Cependant, les glandes apocrines contrairement aux glandes sébacées, ne sont pas présentes sur toute la surface du corps, mais sont localisées dans les régions axillaires et pubiennes. Les glandes sudoripares eccrines sont situées près du follicule mais sécrètent près de la sortie du follicule pileux non directement dans le follicule.(P. Kintz et coll,2015)

***Croissance des cheveux** : Les cheveux poussent dans des cycles qui alternent entre les phases de anagène (croissance active), catagène (transition) et télogène (au repos) (E.Gallardo, JA. Queiroz, 2008 ; C. Margalho, 2017).

Habituellement, plus de 90 % des cheveux sont en phase de croissance (ou anagène), la longueur de l'anagène varie de 2 à 6 ans. Par apoptose, les cheveux commenceront à entrer dans la phase catagène relativement courte, au cours de laquelle le follicule commencera à régresser et se déplacer vers la surface (les papilles disparaîtront essentiellement). Au cours de la prochaine phase, le télogène, les cheveux vont effectivement tomber. Si le cycle est terminé, une phase de repos suivra, puis le follicule reprendra la phase anagène. Toutefois, les cheveux peuvent « sortir » du cycle et cesser d'être des cheveux terminaux. Par exemple, il peut devenir un poil vélin (poil non pigmenté « pêche-duvet ») ou le follicule pileux peut disparaître définitivement, comme c'est le cas avec la calvitie masculine. Les événements connus pour affecter le follicule pileux et son cycle comprennent des événements de signalisation locale (par exemple, cytokines, hormones, molécules d'adhérence). Cependant, il n'existe pas de théorie solide du contrôle du cycle. Les hypothèses comprennent la présence : (1) d'une horloge de morphogenèse, (2) d'un inducteur de cycle, (3) d'un désynchronisateur et (4) d'une horloge de cycle réelle, mais aucune de ces hypothèses n'est spécifiquement connue. (R. Baratz, 2001) (figure 2)

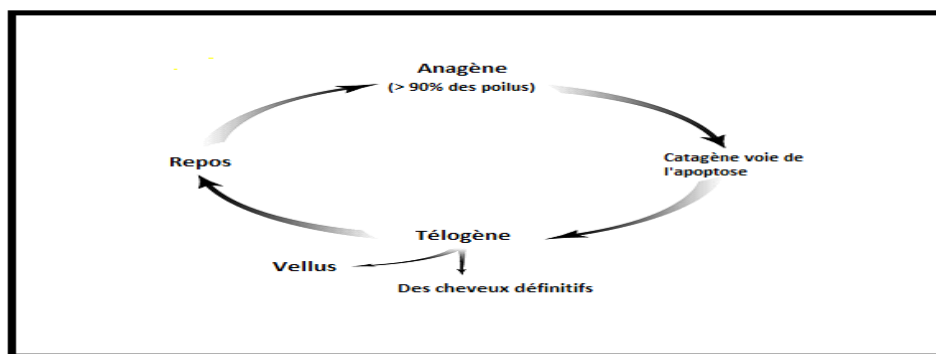


Figure2 : Le cycle de croissance des cheveux. (R. Baratz, 2001)

2-Classification des types de cheveux :

Les cheveux sont le produit d'organes différenciés dans la peau des mammifères. Ils ne diffèrent chez les individus que par leur couleur, leur quantité et leur texture. (A. Negrusz et G. AA Cooper ; 2013).

Il existe différents types de classification des cheveux :

- Les trois types de cheveux de base sur le corps humain sont classés comme le **duvet** (pilosité), **intermédiaire**, et **terminal**. Le duvet couvre la majorité de la surface du corps des enfants et des adultes et il est beau, court, et non pigmenté, et se trouve également sur les paupières et le front. Alors que les cheveux velus sont produits par des follicules pileux non sexuels et non affectés par les hormones, les poils intermédiaires et terminaux sont influencés par les hormones et les changements au cours de la puberté. Les poils terminaux se trouvent sur le cuir chevelu, la barbe, les sourcils, les cils, les aisselles et les zones pubiennes et contrairement aux cheveux velus, ils sont grossiers, longs et pigmentés avec une grande section transversale. Les cheveux intermédiaires ont des caractéristiques de velus et les poils terminaux et se trouve sur les bras et les jambes des adultes. (P.Kintz et coll, 2015)
- Les cheveux humains sont également couramment classés en utilisant les sous-groupes ethniques d'Afrique, d'Asie ou d'Europe.
- Un système de classification alternatif propose huit sous-groupes différents, selon que les cheveux soit droits ou bouclés, et propose une approche plus objective qu'une approche subjective fondée sur l'ethnicité (De la Mettrie et coll ; 2007). Le système de classification comprend la mesure de trois paramètres : le diamètre de la courbe, l'indice de courbure et le nombre d'ondes. (P.Kintz et coll, 2015)

Les poils pubiens, les poils des bras et les poils axillaires (aisselles) ont été suggérés comme sources alternatives de détection de drogues lorsque les cheveux du cuir chevelu ne sont pas disponibles. Diverses études ont trouvé des différences de concentrations entre les poils pubiens ou axillaires et les poils du cuir chevelu. Les différences significatives des concentrations de médicaments dans ces études s'expliquent par une meilleure circulation sanguine, un plus grand nombre de glandes apocrines, un rapport télogène/anagène totalement différent et un taux de croissance différent des cheveux (poils axillaires : 0,40 mm/jour, poils pubiens : 0,30 mm/jour).(A. Negrusz et G. AA Cooper ; 2013)

3-Taux de croissance des cheveux :

L'arbre pileux commence dans les cellules situées dans un centre de germination, appelé la matrice, située à la base du follicule (Figure1). Les cheveux ne poussent pas continuellement, mais en cycles, alternant entre les périodes de croissance et de repos. Un follicule qui produit activement des cheveux est dit être dans la phase anagène.

Les cheveux sont produits pendant 4 à 8 ans pour les cheveux de tête (12 mois pour les cheveux non de tête) à un taux d'environ 0,22 à 0,52mm/jour ou 0,6 à 1,42 cm/mois (Saitoh et al, 1969) pour les cheveux de tête, le taux de croissance dépend du type de cheveux et de l'emplacement anatomique (A. Negrusz et G. AA Cooper ; 2013 ; P.Kintz et coll, 2015). Par exemple, en moyennes les taux de croissance des cils et des sourcils ont été signalés à 0,16 millimètre (mm) par jour, les poils du cuir chevelu à 0,34 à 0,36 mm/jour et les poils de barbe à 0,38 mm/jour. Le cuir chevelu croît à un rythme moyen de 1 centimètre (cm) par mois, mais peut varier de 0,6 à 3,36 cm/mois (Harkey, 1993)(R. Baratz, 2001). Les taux de croissance sont également influencés par l'âge, le sexe, la couleur des cheveux et l'origine ethnique (Robert Baratz, 2001)ainsi que, le stade de développement, le sexe, la grossesse, les troubles métaboliques et génétiques, la nutrition et les changements de la saison.(Randall VA, Ebling FJ, 1991 ; Wolfram LJ, 2003).

La croissance des cheveux est un processus cyclique entraîné par l'activité des cytokines (hormones) résultant en poils individuels sur le corps à différents stades du cycle de croissance (Paus R, 1998 ; A. Negrusz et G. AA Cooper ; 2013). Les trois stades reconnus de la croissance des cheveux sont les phases anagènes, catagènes et télogènes. L'anagène ou phase de croissance peut durer plusieurs années et se caractérise par la formation de la tige du cheveu qui dépasse la surface de la peau. On estime que 85% des poils du cuir chevelu humain sont en phase anagène. Le catagène ou phase transitoire suit cette période de croissance active. Au cours de cette étape, la division cellulaire s'arrête, la tige de cheveux devient complètement kératinisée, et le bulbe commence à dégénérer, dont la longueur varie en fonction du type de cheveux. Le télogène ou phase de repos suit la phase catagène et est une période où il n'y a pas de croissance des cheveux, mais la papille cutanée reste dans la phase de repos. Il est estimé que 10 -15% de tous les poils sont dans la phase télogène à un moment donné avec la durée de l'augmentation avec l'âge et dépend également du type de cheveux (A. Negrusz et G. AA Cooper ; 2013 ; P.Kintz et coll, 2015). Les cheveux sont faciles à enlever à ce stade et sont souvent appelés « excréation ». Peu de temps après, la phase de croissance recommence en stimulant les cellules souches de la zone bombée de la GRE (Wosicka H, Cal K, 2010).

La Society of HairTesting (SOHT) recommande d'utiliser un taux de croissance moyen de 1 cm/mois pour les cheveux de tête. Il faut toujours tenir compte de l'interprétation des échelles de temps représentées par la longueur d'un échantillon de cheveux, non seulement en raison de la variation des taux de croissance reconnus, mais aussi en raison de l'âge du sujet. En

outre, comme il a été estimé à prendre environ 7-10 jours pour les cheveux en croissance pour atteindre la surface du cuir chevelu, cheveux coupés du cuir chevelu ne représente pas la période la plus récente de la croissance des cheveux. (P.Kintz et coll, 2015)

4-Couleur des cheveux :

Les différences de couleur des cheveux sont une conséquence de la variation du type et de la quantité de mélanine présente qui est un polymère poly anionique d'eumélanine et de phéomélanine (A. Dasgupta, 2019) (tableau n° 6). La mélanogénèse folliculaire ou la formation de pigments a lieu dans des organites appelés mélanosomes qui sont présents dans des cellules spécialisées appelées mélanocytes (G.Prota, 1992). La taille, le type, le nombre et la distribution des mélanosomes dans la tige de cheveux affectent aussi la couleur des cheveux. La pigmentation dans la tige du cheveu ne représente que 0,1-5 % de la masse capillaire (MR.Harkey, 1993). Ce processus se déroule exclusivement dans le follicule pileux et est régulé par des enzymes, des récepteurs et des protéines pendant la phase anagène de la croissance active des cheveux (A.Slominski et coll, 2005).

Quatre types de mélanine sont pensés pour déterminer la couleur des cheveux, à savoir eumélanine, phéomélanine et leurs produits oxydants, oxyeumélanine, oxyphéomélanine (Prota G, 2000). En général, les couleurs plus foncées des cheveux noirs et bruns sont associées à l'eumélanine prédominante, avec des nuances plus claires associées à des quantités croissantes d'oxyeumélanine. Phéomélanine se traduit par des nuances rouges de couleur des cheveux avec des nuances plus claires étant associées à des quantités croissantes d'oxyphéomélanin. (P.Kintz et coll, 2015)

Les cheveux peuvent être considérés comme une résine échangeuse d'ions (D. A. Kidwell and D.L. Blank, 1996). Les médicaments basiques sont chargés positivement au pH physiologique, une attraction ionique se produit entre la mélanine polyanionique ou les protéines dans les cheveux et le médicament cationique (protoné) (D. E. Rollins et coll, 1997). La liaison de médicaments est moins polaire à d'autres composants du cheveu, c'est-à-dire les lipides qui se posent par van der Waals interactions. (M. UHL et F. SCHEUFLER, 2005)

Selon des études effectuées, des drogues sont trouvées avec une affinité plus élevée de mélanine sont : metoclopramide, codéine, amitryptiline, amphétamine, maprotiline, et la cocaïne. Les médicaments ayant une faible affinité avec la mélanine sont : la benzoylécgonine, V-acétylamphétamine et 9-carboxy-THC. Le résultat de ces études contrôlées et des examens statistiques est l'existence d'une fixation plus élevée des

médicaments de base à la mélanine. La normalisation de la concentration de médicament avec la concentration de mélanine réduit la différence de couleur des cheveux. Selon les examens statistiques et les données, il n'y a pas de "biais de couleur de cheveux" important. (M. UHL et F. SCHEUFLER, 2005)

Tableau N° 6 : Teneur en mélanine dans les cheveux de sujets caucasiens. (Michael UHL, F. SCHEUFLER, 2005)

La couleur	Nombre d'échantillon (n)	Mélanine totale (µg /mg de cheveux)	La moyenne (µg /mg de cheveux)
Châtain clair	20	0.8-2.4	2
Blond moyen	15	1.2-5	3
Roux	5	3.8-5.7	4
Marron	15	3.3-11.5	5.7
Noir	10	8-20	12

II-Incorporation des xénobiotiques dans les cheveux :

1-Mécanisme d'incorporation des xénobiotiques dans les cheveux :

Les mécanismes exacts par lesquels les médicaments ou analytes d'intérêt sont incorporés dans les cheveux et les facteurs affectant leur stabilité ne sont pas pleinement compris. Les médicaments et les oligo-éléments circulant dans le corps sont incorporés dans les cheveux pendant les périodes d'activité métabolique accrue et de division cellulaire synonyme avec la phase de croissance anagène. (P.Kintz et coll, 2015)

Les propriétés physicochimiques d'un médicament peuvent grandement influencer la facilité avec laquelle il est incorporé dans les cheveux. Plus la substance est lipophile neutre/basique, plus elle est facile à intégrer dans les cheveux, tandis que les médicaments hydrophiles acides ne diffusent pas aussi facilement. (S. Vogliardi et coll, 2015)

Il est généralement proposé que les médicaments peuvent entrer dans les cheveux par deux processus : **adsorption** de l'environnement externe et **l'incorporation dans la tige de cheveux** en croissance du sang alimentant le follicule pileux.

Le mécanisme exact par lequel les produits chimiques sont liés dans les cheveux n'est pas connu. Il a été suggéré que la diffusion passive peut être augmentée par la liaison de

médicament aux composants intracellulaires des cellules pileuses telles que la mélanine de pigment de cheveux (P. Kintz, 2004). Les médicaments semblent être incorporés dans les cheveux par au moins trois mécanismes : du sang pendant la formation des cheveux, de la sueur et du sébum, et de l'environnement externe (figure 3).

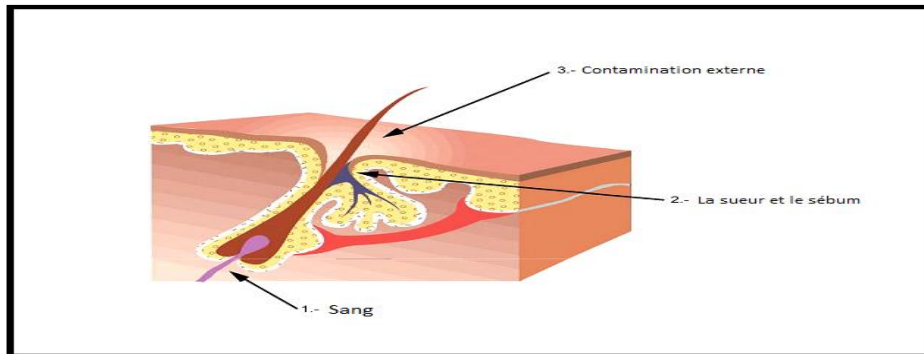


Figure 3 : les mécanismes possibles d'incorporation des xénobiotiques dans les cheveux.(P. Kintz, 2004)

a- A partir de la circulation sanguine, sébum et la sueur :

La solubilité lipidique d'un médicament est un facteur critique pour déterminer le taux de transport du flux sanguin à travers la membrane cellulaire jusqu'à la racine en croissance. Le gradient de pH du plasma, pH 7,3, à des conditions plus acides dans les mélanocytes/kératinocytes (pH 3,6) offrent des conditions avantageuses aux médicaments basiques à incorporer de préférence à des médicaments plus acides. C'était démontré clairement en utilisant des composés structurellement apparentés, la rhodamine (cation) et la fluorescéine (anion), administrée par voie intrapéritonéale, on observe des bandes fluorescentes de rhodamine correspondant à chaque dose quotidienne. Bien que la fluorescéine ait été détectée dans les cellules matricielles pendant la formation, elle n'a pas été détectée dans les cheveux kératinisés. D'autres voies doivent également être considérées pour aider à expliquer le profil de médicament observé dans les cheveux. Des médicaments ont été détectés dans la sueur et le sébum et comme ces deux sécrétions baignent le follicule et la tige pileuse en grandissant, il y aura une contribution aux médicaments incorporés dans les cheveux. (P.Kintz et coll, 2015)

b- incorporation par contamination externe :

La contamination par des drogues de l'environnement doit également être prise en considération, notamment : exposition passive à proximité de personnes qui fument des

drogues (p. ex., l'héroïne, crack cocaïne, cannabis), en manipulant directement les drogues, en touchant les surfaces contaminées par de la drogue et ensuite toucher vos cheveux ou ceux de quelqu'un d'autre. Plus particulièrement, les enfants, et dans une plus grande mesure, les nourrissons qui présentent un risque élevé d'exposition si vous vivez dans un ménage où l'usage de drogues est répandu. Il faut également tenir compte du fœtus à naître qui sera exposé à des médicaments si leur mère continue de faire un mauvais usage pendant sa grossesse.

La contamination externe et le rôle qu'elle joue dans l'incorporation des médicaments ont été étudiés en profondeur par les chercheurs, qui ont eu le plus de mal à recréer des scénarios de contamination réalistes. Il faut également tenir compte de l'état de l'échantillon de cheveux qui peut être endommagé par l'usure naturelle ou un traitement chimique, ainsi que de la porosité des cheveux, ce qui aura une incidence sur l'incorporation de médicaments provenant d'une contamination externe. Il faut également tenir compte de la contamination propre au site, y compris le risque que les sécrétions d'urine et de glandes contaminent les poils pubiens et que les morceaux d'épiderme contaminent les poils de barbe lorsqu'ils sont recueillis par le rasage. (P. Kintz et coll, 2015)

Il a été proposé que la détection des métabolites de cocaïne puisse différencier la consommation active de cocaïne de la contamination externe ou de l'exposition passive. Koren et al ont montré que la pyrolyse du crack entraîne l'accumulation de cocaïne dans les cheveux, mais pas son métabolite benzoylecgonine. D'autre part, chez les consommateurs de cocaïne, la cocaïne et la benzoylecgonine sont détectables dans les cheveux. Toutefois, de nombreuses études ont démontré la présence de métabolites de médicaments et/ou de médicaments après une contamination externe. (A. Dasgupta, 2019)

2-Relation dose-réponse :

Il est postulé que les pigments ont des affinités différentes pour différents médicaments, résultant en des concentrations de médicaments différentes; cet effet a été étudié chez les animaux et les humains. Les rats Long-Evans fournissent un modèle idéal pour l'étude de l'incorporation de médicaments car ils produisent à la fois des cheveux noirs et blancs.

Bien que des études posologiques contrôlées menées sur des animaux et des humains aient permis d'établir une relation linéaire entre la dose et les concentrations de médicaments trouvées dans les cheveux pour certains médicaments, la grande majorité des études ont démontré qu'il n'existe pas de relation linéaire. L'explication la plus probable est due à la

variation inter-sujet avec un certain nombre de variables supplémentaires, y compris la couleur des cheveux et les traitements cosmétiques étant d'une importance particulière. (P.Kintz et coll, 2015)

Des preuves d'une relation dose-réponse pour la méthamphétamine(MA) ont été signalées dans des conditions contrôlées et en corrigeant la teneur en mélanine. Toutefois, les conditions contrôlées ne sont pas représentatives de l'exposition réelle et le rôle de la contamination doit également être pris en considération. On a signalé que les concentrations de MA/amphétamine mesurées chez les enfants exposés à la MA dans les cheveux étaient semblables à celles mesurées chez les adultes qui abusent de la MA. (P.Kintz et coll, 2015)

3-Liaison de mélanine :

Un certain nombre d'études ont examiné l'incorporation de différents médicaments dans les cheveux impliquant des modèles animaux qui ont fourni des informations utiles sur le rôle de la mélanine. Les cheveux plus foncés contiennent plus de pigments (mélanine) que les cheveux de couleur claire, pour cela on a administrés des médicaments de basicité différente à des animaux ayant à la fois des cheveux pigmentés et cheveux non pigmentés. Les résultats ont montrés une plus grande affinité des médicaments à caractère basique à la mélanine, car ils étaient présents en concentrations plus élevées dans les cheveux pigmentés. Les médicaments neutres et acides n'ont pas démontré une plus grande affinité avec les cheveux pigmentés ou non pigmentés.

Il est important de se rappeler lorsque ces résultats sont liés aux cheveux humains que les poils d'animaux et d'humains diffèrent en ce qui concerne les cycles de croissance et la structure qui peuvent entraîner une distribution différente de médicaments. Des profils d'incorporation différents des esters éthyliques d'acides gras dans les poils de rat ont été signalés et ont également été observés pour les médicaments contre la dysfonction érectile et leurs métabolites. Le sildénafil et son métabolite primaire, le desméthylsildénafil, ont été mesurés dans des poils de rat pigmentés et non pigmentés et dans deux échantillons de cheveux humains prélevés sur des individus soupçonnés d'utiliser des fournitures illégales de sildénafil. Les concentrations dans les cheveux pigmentés étaient plus élevées que celles mesurées dans les cheveux non pigmentés soutenant le rôle de la mélanine dans l'incorporation du médicament. Des facteurs supplémentaires influent sur l'incorporation de médicaments dans les cheveux, y compris quantité et type de mélanine présents et liants à la kératine. (P.Kintz et coll, 2015)

La relation entre la mélanine et la cocaïne a été noté dans de nombreux articles concernant les analyses des cheveux. Reid et al ont trouvé que la tendance d'incorporation de cocaïne dans les cheveux était noir>marron>blond(R.W. Reid et coll ; 1994). Joseph et al ont spéculé que la mélanine était considérée comme le site de liaison le plus probable pour la cocaïne dans les cheveux. Leur analyse Scatchard a révélé que les cheveux foncés avaient une affinité de liaison 5 à 43 fois plus grande que les cheveux clairs(R.E. Joseph et coll; 1997). Nakahara et al ont montré in vitro que la cocaïne était la drogue la plus susceptible d'être mélangée à la mélanine de 20 drogues principales (Y. Nakahara et coll ; 1995)

4-Stabilité des drogues dans les cheveux :

Une fois que la tige du cheveu est protégée de la lumière, de la chaleur et de l'humidité, les médicaments sont stables pendant des centaines d'années. Par exemple, des métabolites de cocaïne ont été détectés dans les cheveux de momies âgées de plus de 4000 ans(MA. Rivera et coll, 2005 ; A. Dasgupta, 2019). La présence d'opiacés a été détectée dans cinq tiges de cheveux (environ 7,5 cm de longueur) du poète victorien John Keats 167 ans après sa mort (Baumgartner et al. 1989), on croit qu'il a pris laudanum (opium) pour contrôler la douleur de la tuberculose. Le cuir chevelu de huit momies chiliennes et péruviennes datant de 2000 avant J.-C. à 1500 après J.-C. a également été testé positif à la benzoylecgonine (Cartmell et al, 1991).

Toutes ces études indiquent que l'incorporation de médicaments est très stable dans les cheveux et que la technologie médicale moderne peut aider d'autres disciplines. De toute évidence, les substances organiques sont capables de survivre dans les cheveux pendant des milliers d'années dans des conditions favorables (température ambiante, atmosphère sèche).(A. Negrusz et G. AA Cooper, 2013; (Kintz, 2015)

Dans le cas d'administration des mêmes doses de methoxyphenamine, le niveau de drogue le côté racine était le plus haut et le côté pointe le plus bas. Selon les données, il est constaté que le niveau de médicament dans les cheveux a diminué approximativement de 50 % cinq mois plus tard et le rapport des niveaux de drogue dans les sections correspondantes de cheveux est presque corrélé au rapport des doses administrées, seulement dans le cas où les arbres de cheveux ne sont pas encore endommagés et les médicaments dans les cheveux ne sont pas encore décomposés. (Y. Nakahara et coll, 1992)

Neufs molécules anti dépresseurs et anti psychotiques et leurs métabolites (carbamazépine, amitriptyline, doxépin, trihexyphenidyl, chlorpromazine, chlorprothixene, trifluoperazine,

clozapine, haloperidol...) peuvent être incorporés dans les cheveux cependant la tendance à s'incorporer peut être corrélée au poids moléculaire, la lipophilie et l'aspect basique de la drogue. L'analyse des cheveux offre la possibilité de déduire l'usage des antidépresseurs et d'antipsychotiques en thérapie et l'histoire d'utilisation, ils peuvent être détectés dans les cheveux 16 mois après la dernière prise. (M. Shen et coll, 2002)

Le groupe de Potsch et Skopp ont étudié la stabilité des médicaments dans les cheveux dans diverses conditions. Ils ont constaté qu'après l'entreposage de poils naturels dans le sol ou dans l'eau pendant quatre semaines, les niveaux d'opiacés avaient considérablement diminué. Ils ont également montré que les concentrations d'opiacés dans les cheveux diminuaient par la décoloration, l'ondulation permanente et la chaleur ou l'exposition aux UV. Jurado et al ont également signalé l'influence du traitement cosmétique sur les cheveux pour le dépistage de la cocaïne, des opiacés, des cannabinoïdes et de la nicotine. Leurs données ont montré que le blanchiment produisait des diminutions plus importantes que la teinture. (Y. Nakahara, 1999). Donc, il est très important de considérer l'histoire cosmétique d'un échantillon de cheveux dans l'interprétation des résultats de l'analyse capillaire. (M. yegles et coll, 1999)

III- Analyse toxicologique des cheveux :

1-Contexte et objectifs de l'analyse des cheveux :

La recherche de nouvelles matrices, adaptées à la mise en évidence d'expositions anciennes remontant à plusieurs semaines, voire plusieurs mois, oriente le toxicologue vers l'utilisation des cheveux. Sur la base d'une vitesse de pousse d'environ 1 cm par mois, une simple mèche de cheveux de plusieurs centimètres permet d'effectuer des recherches toxicologiques sur des périodes remontant à plusieurs mois, ce qui élargit considérablement la fenêtre de détection des xénobiotiques et complète utilement l'utilisation des autres matrices classiques. (Thomas Gicque, 2013)

2-Types de substances recherchées et dosées dans les cheveux.

Tous ceux que l'on recherche dans les autres milieux biologiques dans les mêmes circonstances. En revanche les teneurs sont beaucoup plus faibles, les masses d'échantillons disponibles beaucoup plus petites, ce qui impose des moyens analytiques adaptés. (Ricordel.Ivan, 2011)

L'analyse des cheveux est ancienne puisque, dès 1836, Marsh développe un appareil permettant de doser l'arsenic dans les viscères, les milieux biologiques et les cheveux.

Des travaux scientifiques récents mettent en évidence l'intérêt de la détermination de molécules diverses. Il s'agit de médicaments (antibiotiques, psychotropes, bêtabloquants, antiépileptiques, cardiotropes, etc.), de substances toxicomanogènes (héroïne, cocaïne, codéine, cannabinoïdes), de molécules de substitution (méthadone, buprénorphine), de polluants (nicotine) ou d'éléments minéraux (arsenic, plomb, mercure, cadmium, aluminium, fluor). (JP.Goullé, 1996)

3 -PROTOCOLES DE COLLECTE D'ÉCHANTILLONS :(Kintz, 2015)

Des conseils sont disponibles sur les meilleures pratiques recommandées pour la collecte d'échantillons de cheveux, y compris des recommandations spécifiques pour l'échantillonnage des cheveux post-mortem, le dépistage des drogues en milieu de travail et les crimes facilités par la drogue (DFC). La majorité des étapes impliquées dans le processus de collecte sont les mêmes quel que soit le type de cas, mais il existe des protocoles spécifiques au type de cas qui doivent également être pris en compte. (P.Kintz, 2015)

La society of hair testing (SOHT) recommande de couper les cheveux aussi près que possible du cuir chevelu à partir de la région du sommet de la tête car c'est le site où il y a le moins de variation des taux de croissance par rapport à d'autres régions du cuir chevelu ou par rapport à d'autres types de poils. Le volume de cheveux nécessaire à l'analyse est une "mèche de cheveux" proportionnelle à l'épaisseur d'un crayon. La collecte d'un volume suffisant de cheveux est essentielle pour assurer l'achèvement de tous les tests nécessaires. La collecte d'échantillons de cheveux plus petits à partir de plusieurs sites dans la région du sommet est également un protocole acceptable. Les mèches individuelles plus petites doivent ensuite être combinées en une mèche de cheveux plus grande et alignées avec l'extrémité radiculaire identifiée. (P. Kintz et coll, 2015)

Lorsque les cheveux de la tête ne sont pas disponibles, d'autres sites de collecte doivent être envisagés, y compris des échantillons intimes (par exemple, les poils pubiens). Dans ces circonstances, la vie privée du donneur doit être priorisée tout en garantissant l'intégrité du processus de collecte. La collecte d'échantillons de cheveux ne doit être effectuée que par un collecteur compétent qui doit reconnaître et respecter les directives de bonnes pratiques pour la collecte d'échantillons afin d'éliminer le potentiel de contamination des échantillons et garantira le maintien de la chaîne de possession tout au long du processus. (P. Kintz et coll, 2015)

a -Procédure de collection et méthode de prélèvement :(Kintz, 2015)

Des instructions claires doivent être fournies avec le kit de collecte des cheveux pour fournir des conseils et permettre au collecteur de vérifier que le contenu est bien présent et correcte. Le kit de collecte doit être scellé. Les ciseaux utilisés pour couper l'échantillon de cheveux doivent être nettoyés avec une lingette sans alcool ou stérilisés avant utilisation.

Le contenu standard d'un kit de collecte de cheveux doit inclure les éléments suivants:

- Formulaire de chaîne de possession
- Feuille et enveloppe de collecte
- Scellés de sécurité
- Sac de preuve (facultatif)
- Enveloppe de transport (facultatif)
- Instructions pour la collecte d'un échantillon de cheveux

Le processus de collecte est résumé en quatre étapes:

*Première étape : Coupez une mèche de cheveux près du cuir chevelu de la région du sommet et alignez les cheveux en identifiant l'extrémité de la racine. (Figure 4)

*Deuxième étape: Pliez le papier d'aluminium dans le sens de la longueur et évitez de le plier au milieu, car cela tordrait les cheveux et les rendrait difficiles à manipuler.

*Troisième étape: Placez l'échantillon de cheveux enveloppé de papier d'aluminium dans l'enveloppe, le sceau, l'initiale et la date de la collection.

*Quatrième étape : Placer le formulaire de la chaîne de possession et l'enveloppe de collecte scellée dans le sac de preuves et l'enveloppe de transport et l'envoyer au laboratoire pour analyse.

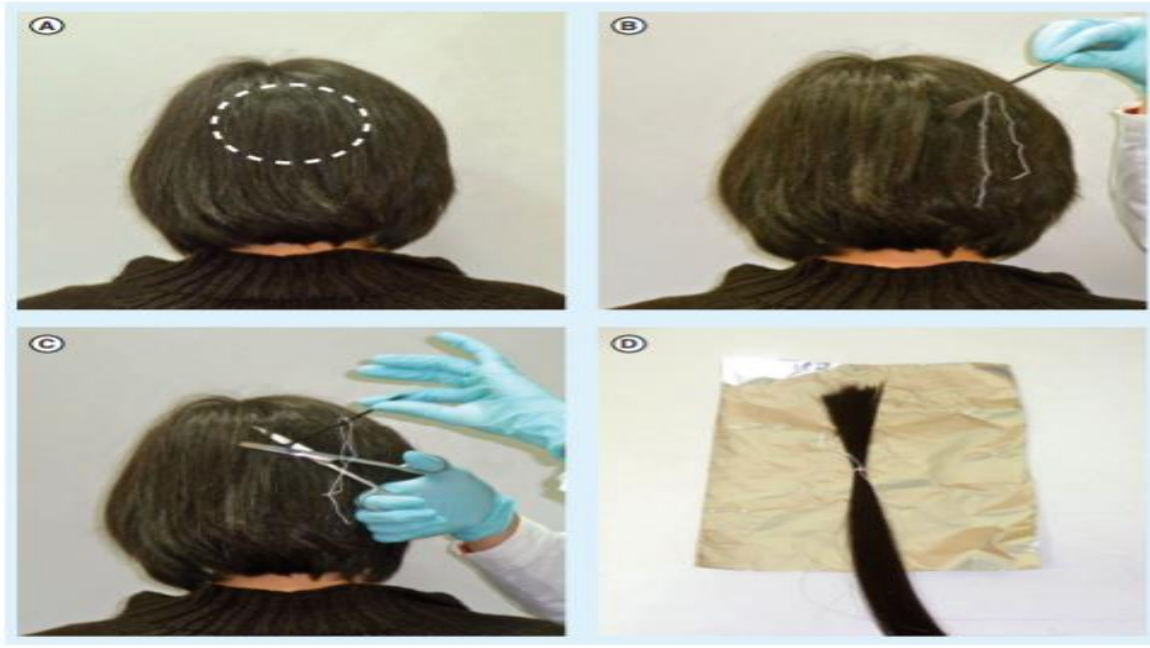


Figure 4 : Procédures de collecte et d'entreposage des cheveux selon la Society of Hair Testing et les lignes directrices proposées précédemment (B. Faria, Carvalho et coll, 2013)

b- Conditions de recueil, de conservation et d'envoi d'échantillons:

Les sacs de plastique ou autres matières plastiques ne doivent pas être utilisés pour entreposer les échantillons de cheveux à moins que les contenants n'aient été lavés ou nettoyés (R.Baratz, 2001). Pour un stockage à long terme, les échantillons de cheveux doivent être stockés à température ambiante, au sec et à l'abri de la lumière directe du soleil (Kintz, 2015). La documentation accompagnant le ou les spécimens devrait énumérer tous les spécimens qui ont été recueillis ou qui sont disponibles pour les essais. Une fois reçu par le laboratoire, le ou les spécimens devraient être inspectés et documentés adéquatement en termes d'état et de quantité pendant le processus d'accès. (A. Negrusz et G.A. Cooper, 2013)

4-Méthodes d'analyse :(Kintz, 2015)

a- Préparation des échantillons :

a-1- segmentation :

Même si l'analyse peut être effectuée sur l'ensemble des cheveux, il est très fréquent d'utiliser un ou plusieurs segments de l'échantillon. Une longueur de segment couramment utilisée est la partie proximale de 3 cm représentant les cheveux cultivés au cours des 3 derniers mois.

Cependant, selon le cas, différentes stratégies de segmentation peuvent s'appliquer. Plusieurs segments courts peuvent fournir un profil beaucoup plus détaillé de l'exposition d'un individu à un médicament qu'un seul segment. La précision d'une telle analyse segmentaire dépend à la fois de l'échantillonnage et de la procédure de segmentation au laboratoire. De mauvaises procédures d'échantillonnage avec des mèches de cheveux incomparables peuvent réduire considérablement la résolution segmentaire.

La SOHT recommande que seuls les cheveux coupés du cuir chevelu dont l'extrémité radiculaire soit identifiée soient soumis à une analyse segmentaire. Il est important de comprendre que lors de l'investigation d'une seule prise, l'utilisation de gros segments dilue le médicament incorporé et provoque des résultats faussement négatifs

a -2- Lavage :

Étant donné que les cheveux poussent à la surface du corps, il existe un risque de contamination par des sources extérieures. Le lavage des cheveux avant analyse est donc une étape importante.

Le lavage a deux objectifs principaux: premièrement, éliminer les produits de soins capillaires, la sueur, le sébum ou les matériaux de surface qui peuvent interférer avec l'analyse ou qui peuvent réduire la récupération d'extraction et deuxièmement, éliminer la contamination externe potentielle des médicaments de l'environnement. Le SOHT recommande que les laboratoires aient une procédure de lavage des échantillons de cheveux avant l'analyse, que la procédure comprenne des étapes de lavage avec des solvants organiques et des solutions aqueuses, et que le laboratoire étudie dans quelle mesure leur procédure de lavage élimine la contamination de surface . Cependant, le lavage n'est pas nécessaire dans les procédures de dépistage, sauf si éliminer la graisse ou les débris qui pourraient affecter la récupération d'extraction ou l'homogénéité de l'échantillon. Un résultat négatif peut être signalé avec confiance et tout résultat de dépistage positif doit être confirmé en utilisant une autre méthode qui comprend le lavage de l'échantillon.(Kintz, 2015)

a- 3- Obtention d'un échantillon représentatif :

Contrairement aux fluides corporels, qui sont facilement aliquotés avant l'analyse, les cheveux sont une matrice solide qui nécessite une sorte d'homogénéisation avant l'analyse. Les cheveux en tant que matrice sont souvent limités en quantité, il y a une tendance à utiliser de moins en moins de cheveux pour l'analyse lorsque des techniques et des instruments plus

sensibles deviennent disponibles. Néanmoins, il faut souligner que moins il y a de cheveux utilisés pour l'analyse, moins ils sont représentatifs des différents cycles de croissance des cheveux sur le cuir chevelu. Le SOHT recommande que les échantillons de cheveux soient coupés en petits morceaux et mélangés ou broyés en poudre pour s'assurer qu'une aliquote représentative de l'échantillon est utilisée pour l'analyse. La poudre de mélange ainsi que la quantité de cheveux pesés avec précision doivent être suffisantes pour garantir la reproductibilité. Une aliquote de 10 à 50 mg est recommandée pour l'analyse. Pour garantir un échantillon représentatif et homogène, la quantité d'échantillon d'origine doit être suffisamment grande et le temps de poudrage doit être suffisamment long pour obtenir une poudre fine. (Kintz, 2015)

b- Extraction des toxiques :

La récupération des analytes de la matrice capillaire dépend de plusieurs facteurs tels que la surface, le temps d'incubation, le degré de désintégration des cheveux, les propriétés physiques et chimiques des solvants et des analytes et les conditions d'extraction en général. La récupération et la reproductibilité de l'extraction sont des paramètres importants pour toute méthode analytique et concernant les cheveux, elles doivent être évaluées à l'aide de cheveux authentiques d'utilisateurs de drogues ou de médicaments. Plusieurs façons d'évaluer la récupération par extraction ont été utilisées et publiées. (Kintz, 2015)

b – 1- Hydrolyse de la matrice capillaire :

Dans l'analyse des cheveux, l'hydrolyse ou la solubilisation signifie la désintégration de la matrice capillaire pour libérer les substances incorporées sous forme de solutés dans un milieu liquide permettant une extraction supplémentaire ou une analyse directe. En fonction des propriétés chimiques de l'analyte, il est nécessaire de garder l'analyte intact pendant l'hydrolyse. (P. Kintz et coll, 2015)

-Au cours de l'hydrolyse alcaline utilisant de l'hydroxyde de sodium, la matrice capillaire est complètement détruite et les analytes sont libérés dans le milieu aqueux. Ainsi, l'hydrolyse alcaline assure une récupération élevée pour les analytes stables tels que les amphétamines.

-L'incubation dans de l'acide chlorhydrique dilué a été suggérée comme une méthode qui convient également aux composés instables. (P. Kintz, 2015)

- L'hydrolyse enzymatique a également été utilisée et s'est avérée efficace, mais elle est plus coûteuse que l'hydrologie chimique.

b-2- Incubation au solvant :

Pour être utile comme méthode de criblage, les conditions d'extraction doivent être douces afin que les composés instables soient protégés de la dégradation. Par conséquent, l'incubation dans un solvant organique ou un tampon a été largement utilisée.

L'incubation au solvant nécessite une attention particulière car la surface active de l'échantillon est un facteur important de récupération et de reproductibilité, cela a été étudié pour l'amphétamine, la codéine, la cocaïne et la benzoylecgonine. (P. Kintz, 2015)

Il existe deux procédures testées, une utilisant un bain-marie à agitation et l'autre utilisant une sonication. La sonication a montré des récupérations plus élevées que l'incubation dans un bain d'eau normal mais à des degrés divers. De plus, les cheveux en poudre présentaient généralement une cinétique beaucoup plus rapide au début suivi d'une augmentation plus lente ou en plateau pour l'incubation restante. (P. Kintz, 2015)

Dans plusieurs études récentes, l'extraction micro pulvérisée (MPE) d'échantillons de cheveux a été utilisée. La méthodologie MPE permet une pulvérisation et une extraction simultanées rapides d'échantillons de cheveux dans un solvant approprié à l'aide de billes métalliques dans un petit tube en plastique. (Kintz, 2015)

c-Stratégie de dépistage et de dosage des xénobiotiques :

Historiquement, les immuno-essais ont été le principal moyen de le faire en toxicologie clinique et médico-légale en utilisant plusieurs techniques au fil des ans. Plus récemment, des techniques chromatographiques ont été proposées comme outils de dépistage possibles. (Kintz, 2015)

c-1-Méthodes immunologiques :

Malgré la prépondérance des techniques séparatives, l'immuno-analyse tient toujours une place importante dans l'examen toxicologique de différentes matrices biologiques. C'est un ensemble de plusieurs techniques telles que : la RIA (RadioImmunoAssay), ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay), EMIT (Enzyme-Multiplied Immunoassay Technique)...etc. La technique ELISA est la plus utilisée dans l'analyse des cheveux (les stupéfiants). (M. Moulisma, 2012)



Figure 5 : méthodes immunologiques utilisées dans le dépistage et le dosage des xénobiotiques : lecteur de microplaques ELISA. (www.mblbio.com)

c-1-1-Principe : repose sur la réaction entre un antigène (molécule ou famille chimique cible: médicaments, stupéfiants) et un anticorps marqué afin de détecter et/ou quantifier la présence d'une molécule (ou famille de molécules) dans un milieu biologique. (M.Moulsma, 2012)

c-1-2-Avantages et inconvénients :

Cette méthode présente l'avantage d'être rapide et simple permettant le traitement de grandes séries d'échantillons, un faible coût, ainsi qu'une automatisation simple.

Toutefois, ces techniques présentent, en général, une faible sensibilité et son usage impose toujours la confirmation par une méthode séparative spécifique et son emploi est à proscrire dans le cadre des recherches de soumission chimique. L'immuno-analyse ne peut donc être utilisée en toxicologie médico-légale qu'en tant que méthode de dépistage et d'orientation à l'usage de l'expert analyste. (M.Moulsma, 2012)

c-2-Méthodes chromatographiques :

Un avantage de la chromatographie est que l'on peut concevoir la méthode de dépistage pour couvrir tous les analytes inclus dans les méthodes de confirmation et personnaliser le seuil de déclaration pour chaque analyte, en supprimant les inconvénients des immunoessais. Les méthodes chromatographiques, cependant, sont plus coûteuses et demandent plus de main-d'œuvre que les dosages immunologiques et peu pratiques lors du criblage d'un grand nombre d'échantillons, surtout si ceux-ci sont principalement négatifs.(Kintz, 2015)

La chromatographie en phase liquide (CLHP) ainsi que la chromatographie en phase gazeuse (CG) couplées à divers détecteurs ont des rôles prépondérants : (M.Moulsma, 2012)

c-2-1- La chromatographie en phase gazeuse :

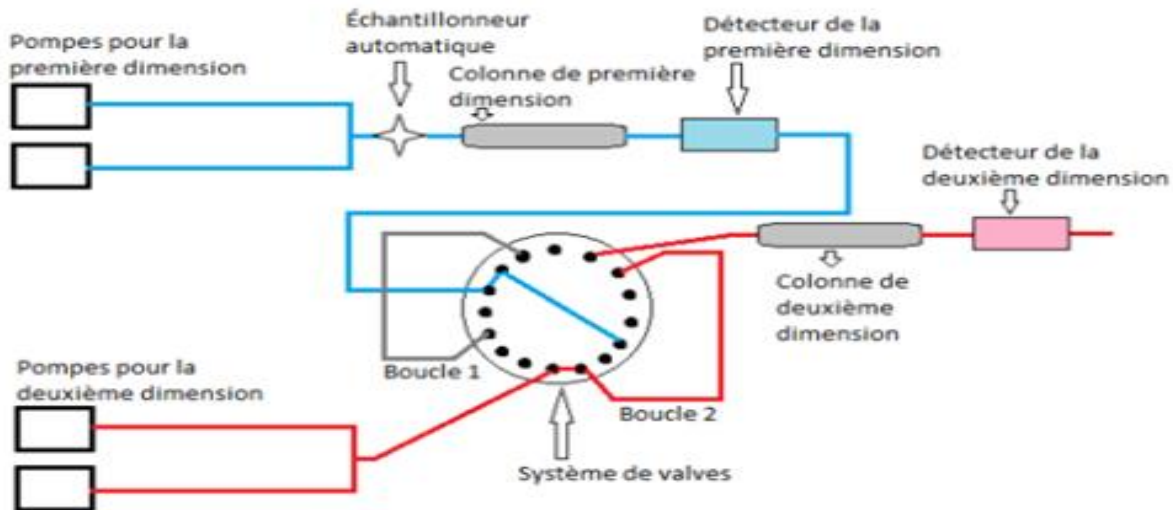


Figure 6 : méthodes chromatographiques : chromatographie gazeuse bidimensionnelle.
(F.Malalar, 2009)

Elle est très largement utilisée, ces dernières années des progrès instrumentaux très significatifs ont vu le jour pour aboutir notamment à la chromatographie en phase gazeuse bidimensionnelle, (CG 2D ou CG \times CG).

C'est une technique chromatographique au cours de laquelle un échantillon est soumis à au moins deux procédés de séparation : Deux colonnes chromatographiques sont montées en série. La clé de cette approche est l'utilisation d'une interface nommée « modulateur » qui est disposée entre les deux colonnes placées en série. Ce modulateur permet d'assurer le transfert de l'échantillon de la première dimension vers la seconde. Le modulateur fractionne l'effluent, focalise ces fractions puis les transferts vers la deuxième colonne en vue d'une deuxième séparation.

Cette technologie a notamment permis de réaliser un criblage (screening) dans les cheveux des opiacés, de la cocaïne et ses métabolites ainsi que des benzodiazépines. Elle présente l'avantage d'être une technique séparative particulièrement efficace pour effectuer des analyses détaillées de mélanges complexes de produits volatils. La CG \times CG a été développée pour faire face aux limitations classiques (faible capacité de pic, gamme dynamique limitée et spécificité restreinte) des systèmes chromatographiques unidimensionnels et ainsi améliorer

l'efficacité de la séparation. Les points forts de la CG \times CG sont un fort pouvoir résolutif, une sensibilité accrue et un champ d'application considérable.(M.Moulsma, 2012)

c-2-2- Chromatographie en phase liquide :

La chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) est une méthode de séparation des constituants d'un mélange même très complexe, son principe est le suivant : un liquide appelé phase mobile parcourt un tube appelé colonne. Cette colonne peut contenir des "granulés" poreux (colonne remplie) ou être recouverte à l'intérieur d'un film mince (colonne capillaire). La colonne est appelée phase stationnaire.

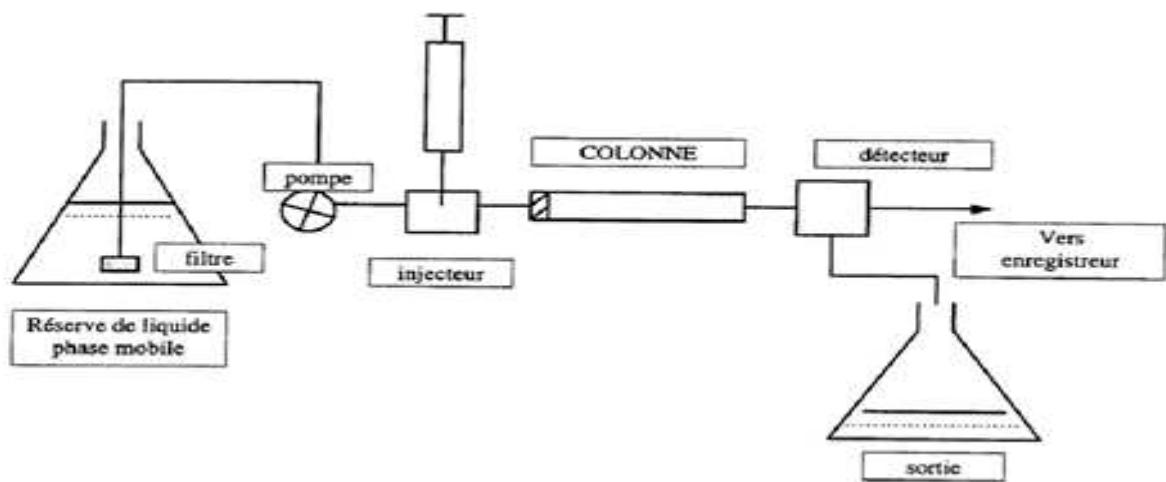


Figure 7 :Principe de la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC).

A l'instant initial, le mélange à séparer est injecté à l'entrée de la colonne où il se dilue dans la phase mobile qui l'entraîne à travers la colonne.

Afin de pouvoir augmenter le débit d'analyse tout en maintenant des performances identiques, la CLHP a connu des évolutions majeures ces dernières années. Parmi celles-ci, on note la mise sur le marché de supports innovants tels que les monolithes organiques ou inorganiques, les colonnes particulières poreuses de granulométrie réduite proposées par de nombreux fabricants (taille inférieure à 2 μm) et les colonnes remplies de particules de silice superficiellement poreuses de diamètre inférieur à 3 μm . Les nouveaux systèmes chromatographiques sont ainsi susceptibles de travailler avec des pressions maximales de l'ordre de 600 voire 1 000 bars, afin d'être compatibles avec les colonnes remplies de petites particules.

L'HPLC permet de réaliser le dosage de plusieurs molécules dans les cheveux comme la prédnisolone, la méthylprédnisolone, bromazépam, zolpidem...etc (M.Moulsma, 2012)

c-3-Spectrophotométrie d'absorption atomique (SAA) :

La SAA est une technique décrite pour la 1ère fois par Walsh en 1955. Elle fournit un puissant instrument analytique quantitatif. (Dr.I.ADOUANI, 2020)

C'est une technique de spectroscopie atomique servant à déterminer la concentration des éléments métalliques (métaux alcalins, alcalino-terreux, métaux de transition) ainsi que les métalloïdes dans un échantillon.

c-3-1-principe :

C'est l'analyse par l'absorption de radiations d'une certaine longueur d'ondes (UV-Vis), par des atomes libres à l'état fondamental conduisant à un passage d'un de ses électrons externes d'une orbite électronique à une autre et un changement de l'énergie. Cette absorption est spécifique à chaque élément. Une source de rayonnement émet des radiations spécifique correspondant à la différence d'énergie entre l'état fondamental et un état excité de l'échantillon à analyser.



Figure 8:appareil de spectrophotométrie d'absorption atomique (SAA)(<http://lenoni.e-monsite.com/>)

L'analyte doit être transformé en atomes libres à l'état fondamental capables d'absorber une partie de ce rayonnement. Le rayonnement non absorbé passe par un monochromateur jusqu'à un détecteur. L'absorption est ensuite mesurée, elle dépend directement du nombre de

particules à l'état fondamental qui est en fonction linéaire de la concentration de l'analyte.
(Dr.I.ADOUANI, 2020)

c-3-2-avantages et inconvénients :

La SAA est une méthode quantitative simple, rapide, sensible, très sélective et relative (il faut donc faire une courbe d'étalonnage). Elle nécessite une faible quantité d'échantillon. Les solutions étalons sont faciles à préparer.

Cependant, on peut noter un certain nombre de limites :

- Pour des raisons technologiques, certains éléments ne peuvent être analysés.
- L'existence parfois d'interférences chimiques sévères.
- L'aspect non qualitatif de la technique impose la connaissance des éléments à doser afin de choisir la source adaptée.
- Ne permet pas l'analyse simultanée d'éléments. (Dr.I.ADOUANI, 2020)

c-4-Spectrométrie de masse couplée à une torche à plasma (ICP-MS) :

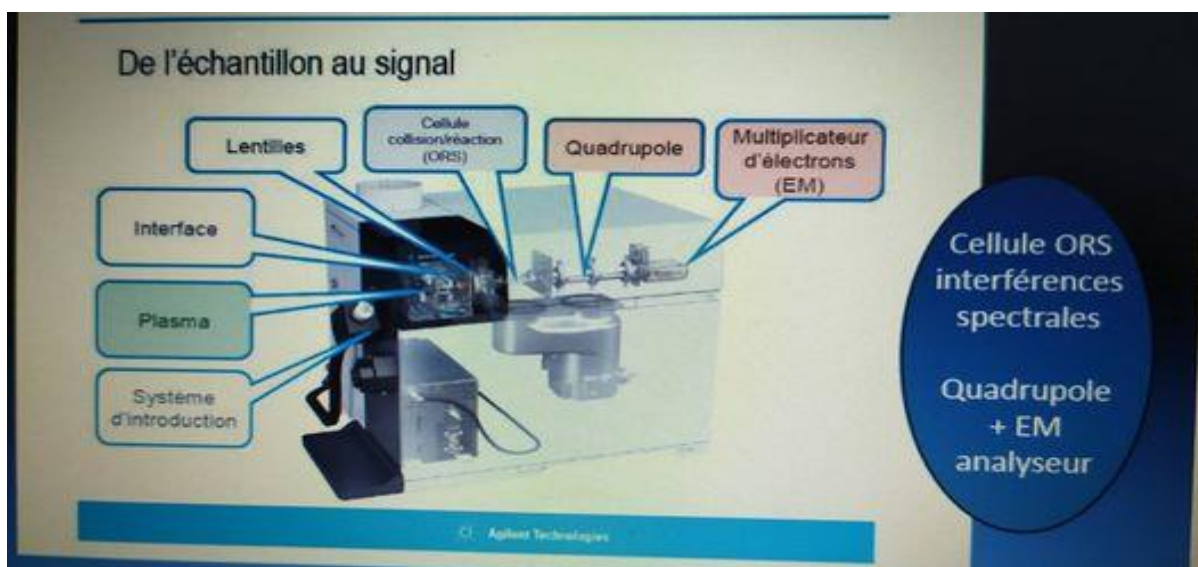


Figure 9 :principe de la spectrométrie de masse couplée à une torche à plasma (ICP-MS) (M.Tillard, 2016)

c-4-1-principe :

L'ICP (Inductively Coupled Plasma), ou spectrométrie par plasma à couplage induit, est une technique particulière de spectrométrie d'émission atomique dans laquelle la flamme est

remplacée par un plasma. Le plasma, état de la matière totalement ionisé mais électriquement neutre, est fabriqué à partir d'un gaz rare (argon) soumis à un champ électromagnétique à haute fréquence.

Le couplage ICP-SM allie les propriétés particulières du plasma aux performances de la spectrométrie de masse. Le couplage ICP-SM constitue une méthode simple et rapide pour une analyse élémentaire ou isotopique sur des temps courts pour la plupart des éléments de la classification périodique et de faibles niveaux de concentration. (M.Moulsma, 2012)

c-4-2-Avantages et inconvénients :

À l'exception des éléments non réfractaires où elles sont meilleures, les limites de détection obtenues sont similaires à celles fournies par la spectrométrie d'absorption avec four de graphite. La détectabilité atteinte, de l'ordre du ng/l voire du pg/l, fait de l'ICP-SM une méthode de choix pour la spéciation. L'amélioration majeure vient des solutions de spectrométrie de masse haute résolution malgré un prix encore prohibitif. (M.Moulsma, 2012)

5. Interprétation des résultats :

L'analyse séquentielle de segments de cheveux apporte des renseignements quant à la période d'exposition ou de consommation des xénobiotiques. Un des aspects concernant le cheveu le plus discuté est l'existence d'une relation entre la dose consommée et la concentration retrouvée dans les cheveux. Ainsi il apparaît que la concentration plasmatique et la demi-vie d'une substance ne déterminent pas à elles seules la concentration retrouvée dans les cheveux. En effet, différentes propriétés liées à la molécule, comme son pka, sa liposolubilité, son métabolisme ainsi que la nature des cheveux interviennent sur son taux d'incorporation. Ce sont les raisons pour lesquelles, l'interprétation doit être menée avec une extrême vigilance.

La Society of HairTesting (SoHT) a émis des recommandations pour les analyses de cheveux dans un cadre d'expertises toxicologiques médico-judiciaires concernant notamment les seuils de positivité des différentes classes de stupéfiants. Des doses minimales détectables dans les cheveux ont pu être déterminées pour quelques substances, permettant ainsi de différencier un résultat réellement négatif (absence de drogue) d'un résultat faussement négatif pour lequel la substance est présente en quantité trop faible pour être détectable. En effet, les concentrations retrouvées dans les cheveux sont faibles, ce qui conditionne les techniques à mettre en œuvre pour leur détection. Les concentrations de l'ordre du pg/mg de

cheveux correspondent le plus souvent à une exposition ou prise ponctuelle ou unique, alors que des concentrations de l'ordre du ng/mg de cheveux sont le signe d'une prise plus importante, répétée dans le temps, comme lors d'un traitement thérapeutique ou d'une toxicomanie. (Thomas Gicque, 2013)

IV-Domains d'applications de l'analyse toxicologique des cheveux :

Alors que les premières applications médicales en matière d'analyse des cheveux remontent à plusieurs dizaines d'années, notamment avec le dosage de l'arsenic, l'évolution technologique permettant l'analyse des substances organiques à l'état de traces a trouvé de nombreuses applications en toxicologie. Ainsi l'analyse des cheveux permet d'établir un profil de toxicomanie, de contrôler le sevrage, ou de suivre l'observance thérapeutique. De même, l'infraction à la législation sur les stupéfiants, la mise en évidence d'exposition in utero aux xénobiotiques et la soumission chimique, trouvent un intérêt majeur dans cette matrice permettant ainsi de dater la période d'exposition, même ancienne, et d'en établir la chronicité. (T. Gicquel et coll, 2013)

1-Intérêt en toxicologie clinique :

a- Diagnostic des intoxications médicamenteuses et conduite toxicophiles :

L'intoxication médicamenteuse et la conduite toxicophile posent parfois de réels problèmes aux équipes médicales hospitalières (J-P. Goullé et P.Kintz ; 1996). L'analyse des cheveux peut être particulièrement utile lorsqu'il est difficile ou impossible d'obtenir des antécédents de consommation de drogues. (P. Kintz, 2004)

a-1- Intoxications médicamenteuses :

Le cheveu permet d'augmenter de manière considérable la durée de détection de nombreux xénobiotiques. Contrairement au sang et aux urines, il apporte des informations tardives et cumulatives. En l'absence de sang ou d'urine, l'analyse des cheveux peut être la seule solution dans une intoxication médicamenteuse non suspectée au départ, le biologiste est sollicité après plusieurs jours d'hospitalisation. (J-P. Goullé et coll, 1995)

Dans les cas suivants l'examen des cheveux a montré toute sa pertinence :

Cas n°1 : Intoxication par auto-médication

Une femme de 72 ans a été hospitalisée en raison d'une diarrhée résistante au traitement. Elle présente des gonalgies traitées par DiAntalvic et Efferalgan Codéine. Le bilan biologique révèle une cytolysé hépatique et une insuffisance rénale modérée. Au 3ème jour, la

rectosigmoidoscopie montre un aspect parcheminé de la muqueuse colique et une akinésie évoquant une intoxication à la codéine. La paracétolémie est négative. Les morphiniques urinaires sont à la limite du seuil de positivité. La malade ne reconnaît que la prise d'un ou deux comprimés d'Effergal Codéine de temps à autre.

L'analyse des cheveux révèle une forte accumulation de Codéine. L'interrogatoire de la famille confirme l'automédication par Effergal Codéine, la malade consommait jusqu'à 8 comprimés par jour. (J-P. Goullé et P.Kintz ; 1996)

Cas n°2 : Intoxication par amineptine

Un homme de 45 ans admis en dermatologie avec des lésions d'acné extrêmement sévères. L'analyse sanguine réalisée au 10ème jour est négative. La mesure d'amineptine effectuée dans les cheveux révèle des concentrations élevées. Le malade admet la consommation quotidienne de 60 comprimés de 100 mg d'amineptine. (JP. Goullé et P. Kintz ; 1996)

Cas n°3 : Intoxication par la lamotrigine

Un enfant de 16 mois a été hospitalisé plusieurs fois depuis sa naissance en urgence pédiatrique. Outre des troubles digestifs et otorhinolaryngologie (ORL) et essentiellement des signes neurologiques : tremblements, mouvements anormaux voire même un syndrome épileptique débutant. Aucune des explorations menées n'a permis de trouver une explication. Les premières analyses toxicologiques montreront la présence de lamotrigine à concentration toxique dans le sang de l'enfant, pouvant expliquer les symptômes observés plusieurs mois auparavant. L'analyse des cheveux est requise pour confirmer l'exposition de l'enfant depuis sa naissance à la lamotrigine, traitement antiépileptique de sa mère. (G.Hoizey et coll ; 2017)

a-2- Conduites toxicophiles :

En fournissant de l'information sur l'exposition aux médicaments au fil du temps, l'analyse capillaire peut être utile pour vérifier les antécédents auto-déclarés de consommation de drogues dans toute situation dans laquelle un historique de consommation de drogues passées plutôt que récentes est souhaiter, comme dans les tests de dépistage de drogues avant l'emploi et chez les employés. Dans le cas d'un toxicomane qui prend des drogues seulement tous les quelques jours, l'analyse d'urine et/ou de sang peut être négative même lorsque les tests sont répétés. L'analyse capillaire peut également fournir un historique rétrospectif de la consommation de drogues. (A.J Jenkins, 2007). Le dosage des stupéfiants dans les cheveux présente un intérêt certain pour les cliniciens habituellement confrontés aux conduites toxicophiles. Ainsi, la connaissance d'une conduite toxicophile permet d'expliquer, certes a

posteriori, certains symptômes observés ne cadrant pas avec la prise médicamenteuse alléguée, lors d'une intoxication. (J-P. Goullé et P.Kintz ; 1996)

Cas n°1 : Syndrome de sevrage :

une femme de 28 ans hospitalisée pour intoxication volontaire sévère par tricyclique et benzodiazépine, elle présente des troubles de conduction intra-ventriculaires, au réveil, un syndrome majeur d'agitation est constaté faisant évoquer un syndrome de sevrage autre qu'aux benzodiazépines, L'analyse des cheveux révèle un profil d'exposition à la codéine avec consommation épisodique d'héroïne confirmant une conduite toxicophile cachée, et permet de fournir des arguments objectifs pour la prise en charge psychiatrique ultérieure. (J-P. Goullé et P.Kintz ; 1996)

Cas n°2 : Dépistage de conduite toxicophile aux morphiniques

L'héroïne consommée par les toxicomanes se transforme très rapidement, l'usage de ce stupéfiant va s'accompagner au niveau capillaire d'une accumulation de 6-monoacétylmorphine (6-MAM) et de morphine. La présence de 6-MAM est nécessaire mais suffisante pour affirmer une consommation d'héroïne. (6-MAM > héroïne). (J-P. Goullé et P.Kintz ; 1996)

Cas n°3 : Dépistage de conduite toxicophile à la cocaïne :

La cocaïne et ses métabolites (benzoylecgonine, méthylecgonine) peuvent être mesurés dans les cheveux de sujets s'adonnant à la consommation de cocaïne. La contamination externe est possible par exposition à la fumée du crack chez les non utilisateurs. (J-P. Goullé et P.Kintz ; 1996)

Cas n°4 : Surveillance des conduites toxicophiles :

Des programmes méthadones sont introduits, ce qui a naturellement conduit à la mise en place de suivi analytique des toxicomanes. Cette surveillance se fait généralement par analyse urinaire qui s'avère dans la pratique peu efficace car il se limite au simple résultat de présence ou d'absence de famille de stupéfiants, sans identification ni quantification. Réalisée une fois tous les 3 mois, l'analyse des cheveux présente de nombreux avantages (résumés dans le tableau n°). Elle permet également d'établir le profil de la toxicomanie d'un individu, en particulier ses changements vers d'autres substances comme les antitussifs. (J-P. Goullé et P.Kintz ; 1996)

Cas n°5 : Conduite toxicophile au dextromoramide

C'est un sujet qui nie toute consommation de drogue, les analyses urinaires sont négatives. La mesure de dextromoramide dans trois segments de cheveux révèle des concentrations intéressantes. L'intéressé reconnaît alors qu'il en consomme. (J-P. Goullé et P.Kintz ; 1996)

Tableau n° 7 : Intérêt de l'analyse des cheveux par rapport à l'urine dans le suivi des conduites toxicophiles : (J-P. Goullé et P.Kintz ; 1996)

Paramètres	Urines	Cheveux
Prélèvement	Invasif	Non invasif
Conservation	-20°C à +4°C	T° ambiante
Analyse	Immunologie	GC/MS
Cout	+	+++
Risque de faussification	+++	Non
Obtention d'un 2ème échantillon identique	Impossible	Oui
Fenêtre de détection	1 à 3 jours	Semaines, mois
Information clinique	+	+++
Délai d'obtention des résultats	Immédiat	Différé (24-48h)

b- Analyse des cheveux en santé maternelle néonatale et infantile :

Les xénobiotiques sont transformés de la mère aux cheveux du fœtus à environ 80 %, exemples : nicotine, cocaïne, codéine, MDMA, halopéridol (P.Kintz ; 1997)

b-1- Troubles du spectre de l'alcoolisation fœtale :

L'expression « **syndrome de l'alcoolisme fœtal** » a d'abord été utilisée pour désigner l'ensemble des malformations congénitales dues à l'exposition à l'alcool, telles que retards de croissance, anomalies cranio faciales et déficiences intellectuelles. On parle aujourd'hui du **trouble du spectre de l'alcoolisation fœtale (TSAF)**, appellation diagnostique qui décrit un large éventail de présentations et de handicaps résultant de l'exposition à l'alcool in utero. Le TSAF occasionne d'importants problèmes comportementaux et intellectuels qui persistent toute la vie et dont la complexité peut s'accroître si les personnes atteintes ne reçoivent pas les soins et les services dont elles ont besoin. (G.Sabourin ; 2017)

L'analyse capillaire maternelle pour les biomarqueurs de consommation d'alcool fournit une possibilité d'enquêter sur les soupçons d'utilisation d'éthanol gestationnel et de déterminer les enfants à risque de TSAF. Il a été démontré que l'analyse capillaire maternelle surpasse les matrices néonatales dans la détermination des expositions prénatales. Des échantillons de cheveux de la mère prélevés à ou près du moment de la naissance peuvent améliorer la sensibilité à l'identification des enfants à risque. Le glucuronide d'éthyle (EtG) et les esters éthyliques d'acides gras (EEAG) sont des biomarqueurs validés pour l'évaluation de la consommation excessive chronique d'alcool. L'analyse des cheveux de la mère pourrait être effectuée trois mois après l'accouchement et fournit des renseignements fiables sur la consommation d'alcool pendant la gestation au moyen d'une analyse EtG. (Kintz, 2015)

b-2- Syndrome d'abstinence néonatale (NAS) :

C'est l'ensemble des signes cliniques: respiratoires, digestifs, métaboliques, et du système nerveux central associés à l'exposition intra-utérine aux opiacées et autres substances toxiques. Se développent chez 55-94% des nouveaux nés exposés aux opiacés: 42- 94% d'entre eux auront besoin de pharmacothérapie. (M. Hudak et coll ; 2012). (S.Ménard ; 2017)

Un syndrome de sevrage éprouvé par les nouveau-nés exposés aux médicaments après la naissance :

- Suit généralement l'exposition aux opioïdes, mais d'autres médicaments ont été impliqués (benzodiazépines, barbituriques)
- 40 à 80 % des nouveau-nés exposés à l'héroïne et à la méthadone développent un NAS contre 5 % des personnes exposées à des analgésiques opioïdes (S.W. Patrick et coll; 2017)

Les symptômes du NAS culminent généralement à 48-72 h après la naissance avec un temps d'apparition moyen de 33 h, bien que l'apparition puisse être retardée jusqu'à plusieurs semaines. Cela pourrait être problématique chez les nourrissons exposés à des opioïdes chroniques ou à des benzodiazépines qui ne sont pas détectés et qui quittent l'hôpital dans les 24 à 36 h suivant l'accouchement.

Lendoiro et coll. ont montré une amélioration considérable de la sensibilité de l'utilisation de la méthadone et de la benzodiazépine maternelles par l'analyse des cheveux maternels par rapport à l'autodéclaration de routine, les concentrations de cheveux de la mère à la méthadone étant hautement prédictives pour le NAS. (P.Kintz ; 2015). Le protocole d'intervention néonatale et le dépistage compris : une confirmation de l'exposition par

analyse toxicologique précoce des premières urines (facile, peu coûteux mais faux + possible), Méconium (24-72h), Cheveux (jusqu'à 3 mois) (S.Ménard ; 2017)

b-3- Mesure des drogues d'abus dans les cheveux néonatales :

En raison des problèmes de santé immédiats et à long terme, les nouveau-nés exposés aux médicaments pendant la grossesse devraient être identifiés peu après la naissance afin que l'intervention et le suivi appropriés puissent être effectués. Les méthodes actuelles pour vérifier l'abus de drogues comprennent les antécédents de drogue autodéclarés par la mère (pas fiables), l'analyse d'urine de la mère (le risque de résultats faussement négatifs en raison de la courte demi-vie d'élimination des médicaments et des résultats positifs ne reflète que l'exposition au cours des 1 à 3 jours précédents), et l'analyse du liquide amniotique, de l'urine ou du méconium du bébé au moment de l'accouchement (test qualitatif au moment de l'accouchement, risque de résultats faussement négatifs dus à l'abstinence au cours des 1 ou 3 jours précédents ou limites de la technologie de test).(A. J. Jenkins, 2008)

Les cheveux de la mère ou éventuellement du nouveau-né permettent des études rétrospectives de la consommation de substances dans les mois précédents. Ces deux matrices sont donc très intéressantes pour rechercher une exposition intra-utérine de l'enfant à une ou plusieurs substances.(S.Lamy et coll ; 2014)

Le modèle du fœtus dont la mère consomme une substance représente aussi un exemple d'incorporation passive. Les cheveux du fœtus ne poussent qu'au dernier trimestre de la grossesse et il a été mis en évidence que les xénobiotiques consommés par la mère pendant cette période pouvaient se retrouver dans les cheveux du nouveau-né suite au transfert placentaire. (V. Cirimele ; 1995) L'analyse des cheveux d'un nouveau-né permet d'augmenter la période de détection et peut fournir des renseignements sur le degré et le profil de consommation de drogues de la mère. (A. J. Jenkins, 2008). Les effets de la cocaïne, du phencyclidine PCP, de la nicotine et d'autres composés sont bien documentés. En 1987, Parton a signalé pour la première fois la quantification de l'exposition du fœtus à la cocaïne par des cheveux obtenus chez 15 bébés. D'autres études ont démontré le transfert placentaire de l'halopéridol maternel et la présence de nicotine, de morphine, d'amphétamine et de benzodiazépines dans les cheveux des nouveau-nés. Il a été suggéré que l'accumulation fœtale de cocaïne et de ses métabolites suit un schéma linéaire à l'intérieur des doses cliniquement utilisées et qu'il existe un transfert de nicotine maternelle au bébé dose-dépendant. (A.Negrusz et G.Cooper ; 2013)

b-4- risques sociaux infantiles :

L'un des principaux avantages de l'analyse capillaire est qu'elle fournit non seulement des informations sur la consommation active de drogues chez les utilisateurs adultes, mais parce que les cheveux sont situés à l'extérieur du corps, elle peut donner des informations précieuses sur l'exposition environnementale aux médicaments. Cela est particulièrement utile pour évaluer les préoccupations sociales pédiatriques qui peuvent survenir en raison de la consommation habituelle de drogues par les aidants naturels. Dans les situations où le risque psychosocial pour un enfant est soupçonné en raison de la fréquence consommation de drogues par les soignants, l'analyse des cheveux des enfants évalue le comportement de consommation de drogues à la maison. Les conclusions fondamentales qui peuvent être tirées d'un test capillaire positif chez un enfant sont les suivantes :

- 1-Cet enfant a un fournisseur de soins qui consomme régulièrement la drogue en question.
- 2- Le milieu familial de cet enfant peut être contaminé par des résidus de médicaments ou de la fumée de drogues.
- 3- Cet enfant peut être exposé à un risque d'ingestion ou d'inhalation de drogues

L'analyse capillaire est très utile lorsqu'il est difficile ou impossible d'obtenir des antécédents de consommation de drogues, surtout lorsqu'un enfant ou un bébé est impliqué dans un empoisonnement. La discrimination entre une exposition unique et une utilisation à long terme peut être documentée par analyse capillaire. (P. Kintz, 2015)

Exemples :

Cas n°1 : Une femme avait battu ses enfants à plusieurs reprises et les avait forcés à prendre de quatre à dix comprimés de Feminax / jour. Au moment où l'allégation a été faite, les trois enfants étaient âgés de 12 à 16 ans, mais l'administration se serait poursuivie pendant une dizaine d'années. Compte tenu de la longueur des segments analysés, l'exposition à la scopolamine devrait s'être produite au cours d'une période d'au moins plusieurs mois avant l'échantillonnage des cheveux. De plus, la codéine (composant de Feminax) a été identifiée dans chaque segment, ce qui appuie fortement l'exposition répétée à Feminax. Au procès, la mère a plaidé coupable à l'infraction malgré son déni au début de l'enquête. (P. Kintz et coll ; 2006)

Cas n°2 : Les premiers cas impliquant une sédation répétitive liée à l'utilisation de la trimeprazine comme crime lié à la drogue et l'affaiblissement subséquent de deux enfants sont

signalés. En raison du long délai entre le crime présumé et l'examen clinique, le prélèvement de sang ou d'urine était de peu de valeur. Des échantillons de cheveux provenant de chaque sexe ont été prélevés environ 2 mois après la première suspicion d'administration de triméprazine et ont été analysés. Dans la chevelure des deux sujets, la triméprazine a été détectée. La belle-mère, qui était l'auteur des deux cas, n'a pas contesté l'utilisation de la triméprazine comme sédatif. Il est toutefois évident que des administrations répétitives se sont produites, mais qu'il n'est pas possible de déterminer le nombre d'expositions. Compte tenu de la longueur des poils, l'exposition à la totriméprazine aurait dû se produire au moins au cours des 5 derniers mois. Ceci est confirmé par l'analyse des cheveux de la fille. (P.Kintz et coll ; 2006)

c-Cheveux et surveillance thérapeutiques :

Tableau n° 8 : Applications de l'analyse des cheveux à la surveillance thérapeutique

La substance	Application de l'analyse des cheveux à la surveillance thérapeutique
<p>Les antiépileptiques : (J-P. Goullé et coll ; 1995) (J-P. Goullé et P.Kintz ; 1996)</p>	<p>Phénobarbital : -au cours de la thérapeutique antiépileptique, les cheveux concentrent le phénobarbital. - évaluation d'une corrélation entre la posologie, la symptomatologie clinique et la concentration de ce médicament dans les cheveux. - L'analyse capillaire peut apporter des informations pertinentes en pratique clinique: confirmer une erreur de prescription ou de délivrance, quand des dosages sanguins n'ont pas été réalisés, quand des troubles cliniques sont constatés chez un malade traité, pour l'observance thérapeutique au long cours, et en cas de dissociation entre la symptomatologie clinique et la concentration sanguine. - la détermination du phénobarbital dans les cheveux peut compléter utilement le dosage sanguin au cours de la surveillance thérapeutique.</p> <hr/> <p>Carbamazépine : -pas de corrélation significative entre la posologie de carbamazépine et les concentrations trouvées dans les cheveux. - Cependant, la concentration dans les cheveux montre une corrélation du groupe significative avec la posologie qui suggère un transfert de la carbamazépine dans les cheveux dose dépendante.</p>

<p>Les tranquillisants :</p>	<p>-La détection des benzodiazépines dans les cheveux a été évaluée dans plusieurs études, seul le diazépam a pu être détecté chez les patients traités par ce médicament sans relation entre la concentration mesurée et la posologie (J-P. Goullé et coll ; 1995)</p> <p>- une très forte corrélation entre la quantité de méprobamate et les concentrations retrouvés dans la barbe (J-P. Goullé et P.Kintz ; 1996)</p> <p>-différentes méthodes analytiques ont été employées pour détecter diazépam, nitrazépam, oxazépam ou alprazolam dans les cheveux. chez des sujets traités par clonazépam, les concentrations de 7-amino-clonazépam dans les cheveux sont plus élevées que les concentrations du médicament parent, et il reste dans les cheveux pour une durée beaucoup plus longue. (A.Negrusz et G.Cooper ; 2013)</p>
<p>autres psychotropes :</p> <p>(J-P. Goullé et P.Kintz ; 1996)</p>	<p>-Une relation significative a été trouvée entre les concentrations d'amitriptyline mesurées dans les cheveux et les quantités administrées.</p> <p>-Une bonne corrélation entre la concentration en halopéridol mesurée dans les cheveux et la concentration plasmatique à l'état d'équilibre ainsi que la posologie était défini. Par ailleurs, les variations de concentration dans les cheveux sont en relation avec les modifications de posologie.</p> <p>-La concentration en chlorpromazine dans les cheveux est bien corrélée, tant avec la posologie qu'avec la concentration plasmatique à l'état d'équilibre, on peut déduire l'historique individuel de consommation.</p>
<p>digitaliques et bétabloquants :</p> <p>(J-P. Goullé et P.Kintz ; 1996)</p>	<p>- Pour la digoxine, une relation dose absorbée-concentration dans les cheveux est mise en évidence.</p> <p>-Pour le bétaxolol, il est constaté que la mesure du bétabloquant dans les cheveux permet un meilleur suivi thérapeutique.</p>
<p>Antibiotiques : (J-P. Goullé et P.Kintz ; 1996)</p>	<p>-La concentration en ofloxacine dans les cheveux est dose dépendante. Ils précisent qu'au plan individuel, aucune relation quantitative n'a pu être observée entre la concentration d'ofloxacine dans les cheveux et la quantité de médicament reçue.</p>

molécules de substitution (méthadone et buprénorphine) : (J-P. Goullé et coll ; 1995)	-Des échantillons de cheveux chez des sujets inclus dans un programme méthadone, après avoir été analysées : 95 % se sont révélés positifs pour la méthadone et 76 % pour le métabolite principal (EDDP). -Une corrélation significative est trouvée entre la quantité de méthadone administrée et la concentration dans les cheveux. -La concentration de buprénorphine et son métabolite dans les cheveux est dose dépendante.
médicaments divers : (J-P. Goullé et coll ; 1995)	-Mesurer la chloroquine et son métabolite dans les cheveux est proposée pour l'appliquer au contrôle thérapeutique.

2- Intérêt en milieu professionnel :

a- Dépistage des drogues en milieu de travail :

Un avantage majeur de l'analyse des cheveux est qu'il est beaucoup plus capable de surveiller l'abstinence de drogue. D'où la probabilité d'un test faux négatif utilisant des cheveux est très beaucoup moins qu'avec un test d'urine. Un test capillaire négatif est un indicateur d'un non toxicomane plutôt qu'un test d'urine négatif. Dans la pratique, les tests de dépistage de drogues et d'alcool sont considérés comme particulièrement utiles, par exemple, pour les pilotes, les conducteurs de camion, les conducteurs de train ou les conducteurs de machinerie lourde comme les grues. Dans la plupart des pays européens, il est effectué en cas de soupçon ou dans le cadre de l'examen médical de pré-emploi ou de contrôle médical annuel (tableau n°9). (P.Kintz ; 2015)

Tableau n° 9 : Variété des applications du dépistage de drogues grâce à l'utilisation de différentes matrices biologiques sur le lieu de travail, en soulignant où le dépistage de cheveux donne un avantage. (P.Kintz ; 2015)

La matrice	Urine/fluide orale	Cheveu
Pré-emploi	Le test sera négatif après 3 à 5 jours d'abstention de la	Le plus adaptés

	consommation de drogues	
Test aléatoire de drogue	Le plus adaptés	Utile en conjonction avec un test d'urine ou un fluide oral positif
Post-accident /incident	Le test sera négatif après 3 à 5 jours d'abstention de la consommation de drogues	Utile en conjonction avec un test d'urine ou un fluide oral positif
Surveillance du retour au travail	Le test sera négatif après 3 à 5 jours d'abstention de la consommation de drogues	Le plus adaptés

b- Surveillance biologique de l'exposition professionnelle :

La surveillance biologique des expositions (bio métrologie) a été définie dès les années 1980 par la Commission des communautés européennes, l' Institut National de le Sécurité et de la Santé au (INSST) et l'Administration de la santé et de la sécurité au travail(ASST), comme étant « L'identification et la mesure des substances de l'environnement du poste de travail ou de leurs métabolites dans les tissus, les excréta, les sécrétions ou l'air expiré des salariés exposés, pour évaluer l'exposition et les risques pour la santé, en comparant les valeurs mesurées à des références appropriées ». La matrice cheveux est particulièrement intéressante en toxicologie analytique du fait de ses avantages indiscutables tels que la facilité du prélèvement, du stockage et de la conservation. Par ailleurs, les concentrations en métaux sont souvent importantes et insensibles aux variations fugaces. De plus, il est possible d'avoir des informations rétrospectives sur l'imprégnation métallique de l'organisme en raison de la pousse relativement lente des cheveux. Contrairement aux autres milieux analysés, les cheveux pourraient offrir à la surveillance biologique, l'avantage d'avoir des renseignements sur l'utilisation des moyens de protection et donner une idée sur la voie principale d'exposition (inhalation ou ingestion).(M. Riffi et coll ; 2014)

3- Intérêt en toxicologie médicolégale :

De nombreuses applications médico-légales ont été décrites dans la littérature où l'analyse capillaire a été utilisée pour documenter le cas : différenciation entre un trafiquant de drogue et un consommateur de drogue, empoisonnement chronique, crime sous l'influence de la

drogue, sédation et abus d'enfants, décès suspect, garde d'enfants, abus de drogues en prison, identification corporelle, enquête auprès des toxicomanes, présentation de produits chimiques, obtention d'un permis de conduire et contrôle du dopage.(P. Kintz, 2004)

a- Déterminer les causes de décès :

Pour le toxicologue judiciaire, la question la plus importante à traiter dans les cas post mortem est de connaître les substances consommées juste avant le décès et si elles étaient la cause ou auraient pu contribuer à la mort. Le sang ou l'urine sont les matrices de choix en toxicologie post mortem, car ils fournissent des informations à court terme de l'exposition d'un individu à la drogue et peuvent donc donner une image plus précise de la situation au moment du décès. Néanmoins, la grande fenêtre de détection réalisée avec l'analyse capillaire rend cette matrice particulièrement utile, voire indispensable, dans certains cas. Un autre avantage de l'analyse capillaire est que, bien que la corrélation quantitative entre les mesures médicamenteuses dans les cheveux et la quantité de médicament consommée ne soit pas possible, l'analyse capillaire fournit des informations sur l'assiduité ou la gravité de la consommation, permettre de savoir si la personne est un consommateur de drogues lourd, moyen ou léger. (P.Kintz ; 2015)

Exemples :

Cas n°1: Un homme de 39 ans a été trouvé mort à la maison. L'analyse sanguine a démontré une intoxication mortelle à l'aldicarbe. Comme la victime a présenté au cours des mois précédents plusieurs crises, le juge a demandé une analyse des cheveux qui était positive démontrant clairement une exposition répétitive. L'épouse de la victime, accusée de meurtre, n'a pas contesté ce résultat. (P.Kintz, 2004)

Cas n°2 : Un garçon de 14 ans a été retrouvé mort chez un délinquant sexuel mineur bien connu. Les analyses toxicologiques ont démontré une exposition récente et répétitive à la buprénorphine en combinaison avec le nordiazépam. La buprénorphine est détecté dans le sang et les cheveux. La mort du garçon a été attribuée à l'asphyxie accidentelle, dans une situation de violence sexuelle répétitive facilitée, due à la combinaison de buprénorphine et de benzodiazépines, même à des concentrations thérapeutiques. (P. Kintz, 2004)

b- Soumission chimique :

La soumission chimique peut être définie comme l'administration de substances psychoactives à une personne à des fins délictueuses ou criminelles. Les femmes, les enfants et

les personnes âgées apparaissent comme les victimes les plus usuelles. L'empoisonnement par un membre de la famille est fréquent chez les enfants - enfants chimiquement battus (pour obtenir une sédation, soit à visée pédophile, soit simplement pour « avoir la paix ») et les personnes âgées (pour détourner leur vigilance, les escroquer dans le cadre de la signature de chèques, de vol de cartes bleues ou tout simplement les endormir), mais la majorité des observations concernent des jeunes filles, à qui leur agresseur administre une substance afin de diminuer leur résistance à l'acte. (P.Kintz ; 2012)

L'intérêt des cheveux dans le cadre de la soumission chimique est illustré par l'affaire suivante : viol sous influence, jeune fille de 19 ans, ayant perdu toute notion de la séquence des événements. Vue aux urgences à + 10 heures, prise de sang = zolpidem à 39 ng/mL. Analyse des cheveux (prélevés le jour même) négative pour le zolpidem (pour éviter d'attribuer la responsabilité à un produit qui ferait partie d'un traitement thérapeutique). Les cheveux prélevés 5 semaines après les faits étaient positifs pour le zolpidem à 6 pg/mg dans le segment correspondant à la période des faits, négatif dans les autres. Une expérience en Cour d'Assises démontre que l'analyse des cheveux (avec un résultat négatif ou positif, selon les circonstances) est une approche très satisfaisante pour les débats et qu'elle ne laisse pas de place pour la spéculation. (P.Kintz ; 2012)

4-Intérêt dans la surveillance de l'addiction :

a- Toxicomanie :

Aujourd'hui, l'analyse segmentaire est un outil indispensable pour la justice et le corps médical afin de suivre l'évolution d'une toxicomanie ou la substitution par d'autres produits. L'analyse segmentaire des cheveux permet également d'établir le profil de la toxicomanie d'un individu, ainsi que d'éventuelles modifications de sa consommation (augmentation, diminution, pas de changement), ainsi que des substances co-ingérées. (P.Kintz et coll ; 2006)

***Opiacés :**

L'héroïne contient couramment de l'acétylcodéine comme contaminant, qui se décompose en codéine, de ce fait elle est détectée dans les cas d'abus d'héroïne. La morphine est un métabolite de la codéine et peut être détecté lorsque la codéine est abusée. Pour différencier entre la codéine et l'abus d'héroïne, la quantification des deux médicaments a été proposée. Si la concentration de morphine est clairement supérieure à la concentration de codéine dans l'échantillon de cheveux, l'abus d'héroïne ou de morphine est hautement probable. Si la concentration de codéine est supérieure au niveau de morphine, on peut supposer que la codéine a été ingérée. Cependant, la discrimination des usagers d'héroïne de personnes

exposées à d'autres sources d'alcaloïdes de morphine peut être obtenue par l'identification directe de l'héroïne ou du 6-MAM. (A.Negrusz et G.Cooper ;2013)

En outre, l'analyse de cheveux permet d'établir le niveau de consommation des différents produits (faible, moyen ou important) par rapport à des centaines de cas semblables, ce qui est très utile pour ajuster les posologies de buprénorphine. Le médecin aura alors une mesure biologique du niveau de l'intoxication et donc de la dépendance à l'héroïne et pourra ainsi prescrire le traitement de substitution sur une base scientifique, complémentaire de l'examen clinique. (P.Kintz et coll ; 2006)

Dans des études antérieures, on a signalé la présence d'héroïne et de morphine dans des échantillons de cheveux prélevés sur des héroïnomanes. De façon frappante, tous les échantillons de cheveux étaient positifs comparativement à seulement 30 % dans les échantillons d'urine. Cela est probablement dû à la consommation chronique par rapport à la consommation aiguë. Une bonne corrélation entre la concentration de drogue et la durée de la consommation de drogue. (A.Dasgupta. 2019)

***Cocaïne :**

- Dans la plupart des cas, les concentrations de cocaïne sont plus élevées que celles de benzoylecgonine et de méthylecgonine. La détermination du produit de pyrolyse de la cocaïne, l'anhydroecgoninéméthylester (AEME), permet de distinguer les consommateurs de cocaïne des consommateurs de crack. (A.Negrusz et G.Cooper ; 2013)

- La cocaïne et ses métabolites ont été détectés dans les cheveux au moyen de diverses techniques et malgré de grandes variations, on a signalé une corrélation entre la concentration de cocaïne dans les cheveux et la quantité de cocaïne consommée, de plus, la corrélation entre le temps écoulé après la consommation et la concentration de cocaïne a été signalée.

- Des concentrations de benzoylecgonine ont été révélées dans des échantillons de cheveux de nourrissons dont la mère a consommé de la cocaïne pendant la grossesse. Une étude sur l'analyse de l'urine de la mère et des cheveux néonataux pour la cocaïne a montré que l'exposition à la cocaïne gestationnelle avait une sensibilité, une spécificité et des valeurs prédictives positives et négatives vraiment élevées. La concentration médiane de cocaïne était dix fois plus élevée chez les mères que chez les nouveau-nés ainsi que la mesure des métabolites de cocaïne permet d'exclure toute contamination externe. (A.Dasgupta. 2019)

***Amphétamines :**

- On a signalé la présence d'amphétamine, de MA et d'autres amines sympathomimétiques dans les cheveux au moyen de diverses méthodes.

- Après la prise de MA, son principal métabolite, l'amphétamine, peut être détecté dans des échantillons de cheveux, et la différenciation entre la MA et la prise d'amphétamine est montrée par le rapport entre les médicaments.
- En Europe, la MDMA est l'une des amphétamines les plus fréquemment identifiées, reflétant le fait que ce médicament est plus largement abusé en Europe que l'amphétamine ou la MA. (A.Negrusz et G.Cooper ;2013)
- Malgré d'importantes variations interindividuelles, il y avait une corrélation entre l'abus accru d'ecstasy et la concentration de Methylene Dioxy AmphetamineMDA, de 3,4-Methylenedioxy-methamphetamine MDMA et de 3,4-Methylenedioxy-N-Ethylamphetamine MDEAdans les cheveux.
- Selon les études réalisées, malgré une concordance de plus de 50 % entre les drogues consommées et les drogues détectées dans les cheveux, il n'y avait aucune corrélation entre les concentrations de drogues et le nombre déclaré de comprimés d'« ecstasy » consommés. (A.Dasgupta. 2019)

***Cannabis**

- En 1995, la présence du cannabis dans les cheveux a été signalée pour la première fois. La détermination du 9-tétrahydrocannabinol (9-THC) et de son principal métabolite, l'acide 11-nor-9-THC carboxylique (THCCOOH) ont été rapportées. Les concentrations mesurées étaient faibles, surtout en comparaison avec d'autres médicaments. (A.Negrusz et G.Cooper ; 2013).
- Pour éviter une contamination externe potentielle (car le THC, le cannabidiol CBD et le cannabinol CBN sont présents dans la fumée), le métabolite endogène THC-COOH doit être recherché pour confirmer la consommation de drogues. Contrairement à l'urine, le THC est présent avec des concentrations beaucoup plus élevées dans les cheveux que le THC-COOH. Malgré des concentrations plus faibles, il est préférable que le THC-COOH soit mesuré avec le médicament parent. (A.Dasgupta. 2019)

***Phéncyclidine(PCP):**

Dans une étude effectuée sur sept sujets qui admettent l'administration de PCP, les sept sujets sont testés positifs pour le PCP par analyse capillaire alors que seulement un sujet sur sept a obtenu un résultat positif à l'analyse d'urine, ce qui indique une utilisation chronique et une plus grande fenêtre de détection grâce à l'analyse capillaire. De plus, il y avait une corrélation entre la durée de la consommation et la concentration de drogue. D'autres études

démontrent la plus longue stabilité et la plus grande fenêtre de détection du PCP dans les échantillons de cheveux. (A.Dasgupta. 2019)

b- tabagisme actif et passif :

-La mesure de l'intoxication tabagique grâce au dosage de la nicotine dans les cheveux est une méthode non invasive de choix. Elle est applicable aux plus jeunes et même aux nouveau-nés. Elle constitue pour le clinicien un élément très important dans le dialogue avec les familles pour une action éducative efficace et constructive. (J-P. Goullé et coll ; 1995)

-En 1985, afin de déterminer le statut de fumeur des cigarettes, une analyse de la nicotine et de la cotinine dans les cheveux a été effectuée. Les résultats ont démontré que les quantités de nicotine et de cotinine sont en corrélation avec les habitudes de tabagisme et les expositions individuelles. Après, on a évalué les quantités de nicotine dans les cheveux des fumeurs et des non-fumeurs. De plus, l'analyse de la teneur en nicotine des cheveux pour évaluer le comportement individuel des fumeurs de cigarettes a prouvé une corrélation positive significative entre la concentration de nicotine dans les cheveux et le nombre de cigarettes fumées. (P.Kintz ; 1997)

-Dans une population pédiatrique, la mise en évidence d'un tabagisme passif peut avoir un intérêt dans la mesure où il augmente de manière formelle la prévalence de certaines affections. Le tabagisme passif de l'enfant résulte de son exposition à la fumée de tabac contenue dans son environnement, par une inhalation imposée. L'enfant est exposé dès sa conception, ceci a été démontré par la mesure des concentrations élevées de nicotine dans les cheveux de nouveau-nés de mères fumeuses. (J-P. Goullé et coll ; 1995)

-On a signalé un gradient de concentration de nicotine croissant dans les cheveux et une contribution importante de la nicotine de l'environnement à la concentration totale de nicotine trouvée dans les cheveux des fumeurs et des non-fumeurs est fortement indiquée.

L'application de la nicotine capillaire comme mesure de l'exposition à la nicotine ambiante nécessite des informations sur les variations individuelles des mesures de la nicotine capillaire au fil du temps, et surtout, la sensibilité par laquelle l'analyse de la nicotine des cheveux peut révéler des changements dans l'exposition à la nicotine. (K. Zahlsen et G. Nilsen ; 1994)

c- Biomarqueurs alcooliques dans les cheveux :

Les analyses capillaires permettent également de déterminer de manière rétrospective les habitudes en matière de consommation d'alcool. Pour ce faire, les deux marqueurs directs de

l'alcool, l'éthylglucuronide (EtG) et l'ester éthylique d'acide gras (EEAG), sont quantifiés dans les cheveux. Ces marqueurs contiennent l'unité C2 de l'alcool de consommation (alcool éthylique), raison pour laquelle sa mise en évidence témoigne de la présence d'éthanol. (D.Fabien et coll ; 2016)

Contrairement aux marqueurs sanguins classiques (volume globulaire moyen VGM, gamma glutamyle transférase(g-GT), l'EtG est un marqueur spécifique de l'éthanol. En effet, ce produit direct de transformation n'est pas inductible par les médicaments et n'est pas fonction de l'état pathologique du sujet. Il n'y a pas de grande variabilité biologique individuelle dans la formation de l'EtG. Il est désormais admis par la communauté scientifique internationale que la présence d'EtG dans les cheveux peut démontrer une consommation habituelle excessive. Dans le sang, les EEAG sont détectables 24 heures après l'arrêt de la consommation récente d'éthanol et donc l'analyse pratique des EEAG est limitée à leur caractérisation dans les cheveux, la plupart du temps en complément de l'EtG. (P.Kintz ; 2013)

La détection de l'EtG dans les cheveux est toujours associée à la consommation d'alcool, alors qu'un résultat négatif n'exclut pas l'abus d'alcool. EtG présente un faible taux d'incorporation dans les cheveux en raison de ses propriétés acides; par conséquent, seulement des petites quantités d'EtG sont détectables dans les cheveux. Son analyse ainsi nécessite de puissantes procédures analytiques. (P.Cabarcos et coll, 2012) Les EEAG se forment en présence d'éthanol et d'acides gras libres, de triglycérides ..., par une EEAG synthétase trouvée dans le foie mais aussi dans les racines des cheveux. La détermination de l'EEAG est intéressante, car elle semble être responsable de dommages aux organes causés par l'alcool. Les concentrations de quatre EEAG trouvées dans les cheveux des enfants, adultes et buveurs sociaux comparés avec des concentrations de FAEE trouvées dans les cheveux des alcooliques a amené les auteurs à conclure que les EEAG sont des marqueurs appropriés pour la détection de forte consommation d'alcool. D'autres études sont en cours pour examiner l'applicabilité de la détermination de l'EEAG dans la pratique clinique. (A.J Jenkins ; 2008)

5-Intérêt dans la biosurveillance de l'exposition humaine aux polluants :

Une fois que la question de la faisabilité technique a été abordée et de la fiabilité des résultats ont été démontrés, l'intérêt des cheveux pour la biosurveillance de l'exposition aux polluants organiques (PO) montre une augmentation spectaculaire, les cheveux deviennent une matrice de référence pour la biosurveillance de l'exposition humaine aux PO également.

L'utilisation répandue actuelle de cette matrice dans ce domaine a démontré sa pertinence et s'est avérée erronée les critiques initiales. (P.Kintz, 2015)

-Une approche combinée d'analyse d'air à l'aide de capteur passif et d'analyse des cheveux pour le biomonitoring de l'exposition humaine aux hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs). Le dosage d'hydrocarbure aromatique polycyclique hydroxylé (OH-HAPs) dans les cheveux permet d'informer sur l'intensité de l'exposition humaine aux HAPs en réduisant significativement le risque de contamination externe. L'analyse des cheveux permet d'identifier des personnes ayant des expositions particulièrement élevées aux HAPs, et les analyses d'air aident à évaluer le niveau de contamination en HAPs de sites déterminés. La possibilité de quantifier pour la première fois les métabolites de mono hydroxylés de HAPs dans les cheveux offre un nouvel outil pour la mise en évidence d'une exposition humaine aux HAPs. Elle est aisément prélevée et stockée, présente une fenêtre de détection très longue, permettant l'évaluation d'une exposition chronique. (C.Shummer ; 2010)

-Les analyses des pesticides dans les cheveux peuvent mettre en évidence l'exposition humaine aux pesticides. Toutes les personnes testées ont été exposé chroniquement pour les autres pesticides surtout ceux utilisés actuellement en agriculture, leur différence d'intensité d'exposition est largement marquée. La présence de pesticide dans les cheveux est la somme de plusieurs composantes : incorporation, contamination externe et dégradation, et l'interprétation des résultats doit se faire avec précaution. La présence d'un pesticide dans les cheveux confirme l'exposition à ce dernier ainsi que sa concentration dans le segment proximal permet de suggérer l'intensité de cette exposition. (C.Shummer ; 2010)

6- Intérêt dans le contrôle antidopage :

Plusieurs affaires judiciaires ont démontré l'intérêt de l'analyse des cheveux dans le monde du sport. Les cheveux de sportifs ont ainsi été utilisés pour mettre en évidence des pratiques de dopage, des situations de trafic de substances classées comme vénéneuses, généralement des anabolisants ou encore pour infirmer des analyses urinaires contestées (cas le plus fréquent). (P.Kintz ; 2012).

Les résultats les plus probants dans l'identification des substances dopantes dans les cheveux concernent les stupéfiants, les anabolisants stéroïdiens, les corticoïdes et les molécules adrénérgiques. Idéalement, l'analyse des cheveux autorise la différenciation entre un usage unique et une consommation régulière. La contamination « accidentelle » ou l'intention de

nuire qui conduirait à un résultat urinaire positif pour le sportif, pourrait être démontrée par analyse des cheveux, l'athlète pouvant alors prouver une exposition unique. (P.Kintz ; 2012).

-Dans le cadre de la protection de la santé des sportifs (suivi longitudinal), un usage prolongé de corticostéroïdes ou de β 2-adrénergiques ne peut être mis en évidence par analyse urinaire. Au contraire, les cheveux remplissent parfaitement leur rôle de mémoire historique. (P.Kintz ; 2012).

-L'abus d'anabolisants pendant la période hivernale pour la masse musculaire pourrait être révélée. (P.Kintz ; 2012). D'abord, le dopage peut être estimé par un rapport testostérone/ épi testostérone supérieur au seuil cible. Il est démontré qu'au niveau des cheveux la substance mère est la forme prépondérante, de ce fait, l'abus de dérivés de la testostérone peut être révélé par la présence des esters de testostérone (propionate, énanthate, décanoate...) au niveau des cheveux et signe de façon indiscutable un apport exogène. Donc les cheveux prouvent ici un avantage absolu sur les urines, car les dérivés de testostérone seront hydrolysés pour donner de la testostérone, qu'on va retrouver dans les urines en mélange avec la forme endogène ce qui rend la différenciation particulièrement délicate (P.Kintz ; 2006).

-Ainsi, le dopage peut être dépisté lorsque l'on retrouve de la norandrostérone (NA) dans les urines. L'analyse de cheveux permet de distinguer la substance originelle car la NA est bien le métabolite commun à la nandrolone et à la nandrolone décanoate, deux anabolisants interdits, mais aussi à la 19-norandrostènediol et la 19-norandrostènedione, deux précurseurs, certes interdits, ce qui a largement été utilisé dans certaines affaires récentes, où plusieurs sportifs, toutes disciplines confondues, étaient déclarés positifs après mise en évidence de NA dans les urines. (P.Kintz ; 2006)

Enfin, Le dépistage direct du dopage par analyse des cheveux ne semble pas être à l'ordre du jour et les règles du code médical de l'Agence Mondiale Antidopage ne devraient pas être modifiées en ce sens prochainement (P.Kintz ; 2012). Mais à partir d'une standardisation rigoureuse de la méthode de prélèvement et de la technique d'analyse, l'implication des cheveux dans la lutte contre le dopage devrait être reconnue. Espérons que les progrès de la recherche en analyse capillaire contribueront rapidement à consolider ce domaine fascinant au profit de la lutte contre le dopage. (L.Rivier, 2000)

V-Nouveaux défis et perspectives dans l'analyse capillaire : (P. Kintz et coll, 2015)

1-Facteurs de conditionnement et sources de variabilité :

Le succès pratique des tests capillaires dans diverses circonstances, ainsi que sa fiabilité démontrée à fournir des informations cruciales, ne cache pas le fait que le résultat analytique

final est conditionné par un grand nombre de processus biologiques, chimiques et physiques, qui à leur tour dépendent de plusieurs causes, allant de l'individu et de l'environnement à la méthodologie. Chaque processus génère une source de variabilité qui doit être prise en compte lorsque les données analytiques doivent être interprétées.

a - Agents physiques et chimiques :

- L'effet du chauffage sur la concentration d'éthylglucuronide (EtG), consécutive à l'application répétée d'un fer à lisser dans des conditions douces, a été étudié par des expériences in vitro.

Des variations sont observées pour les cheveux non traités, avec une forte dépendance pour la couleur. Lors d'une étude, il faut prendre en compte les phénomènes coexistants, par exemple la dégradation thermique et l'extraction la plus efficace de la matrice kératinique. En revanche, l'EtG est extrêmement stable au sein de la matrice kératinique sur des périodes de temps prolongées, ce qu'il a démontré sur des échantillons de poils de momie, collectés plusieurs centaines d'années après la mort.

- Un autre effet physique qui a récemment attiré l'attention est l'action potentielle de la lumière solaire, jouant éventuellement un rôle dans la dégradation des substances incorporées aux cheveux, en particulier pendant la saison estivale exposée aux rayons UV-B. Une variation de la teneur en drogue des échantillons de cheveux positifs réels (méthadone, morphine, cocaïne et leurs métabolites) a été enregistrée, révélant une décomposition particulièrement importante pour la méthadone et une stabilité plus élevée pour les médicaments incorporés dans les cheveux épais et foncés

- Une altération considérable de la porosité des cheveux est induite par les produits chimiques utilisés dans plusieurs traitements cosmétiques, y compris les permanentes, la décoloration et la teinture. Dans ces conditions, il est quasiment impossible de distinguer la libération des substances incorporées à travers les pores et cavités produites à la surface des cheveux, de leur éventuelle perte par réaction chimique avec des produits cosmétiques. Des études récentes sont sorties pour étudier les effets de la gâterie cosmétique.

- la contamination par des sources externes est renforcée dans les cheveux très poreux, tels que ceux précédemment soumis à des traitements cosmétiques répétés.

b - Interaction entre les constituants capillaires et les substances incorporées :

Les cheveux humains contiennent essentiellement deux types d'oligomères de mélanine: eumélanine, et la phéomélanine. Les deux ont des propriétés acides, mais la densité plus élevée des groupes carboxyliques confère à l'eumélanine un caractère acide considérablement plus fort. Sur la base de considérations théoriques et de certaines preuves expérimentales, les substances de base devraient se lier fortement à l'eumélanine. D'autre part, les substances acides et neutres sont censées ne produire qu'une faible interaction avec les deux types de mélanine, donnant une incorporation similaire à partir de cheveux de toute couleur. Pour ces substances, l'encombrement structurel apporté par le filet kératinique compact des poils joue un rôle important dans leur piégeage et empêche leur élimination aisée.

-Kidwell et ses collègues ont fait valoir que les différences ethniques dans la capacité des cheveux à fixer des médicaments existe, mais elles ne sont pas dues à la couleur des cheveux (qui est généralement noire pour les Asiatiques et aux Africains), mais plutôt à des différences de perméabilité des cheveux, de soins capillaires et d'hygiène personnelle, habitudes de vie, ainsi que la voie d'administration du médicament ou d'exposition passive.

c - Distribution des substances xénobiotiques dans les cheveux :

L'incorporation de médicaments et d'autres substances xénobiotiques à l'intérieur de la structure du cheveu se produit à partir de plusieurs sources (sang, sueur et sébum) avec des mécanismes différents, contribuant à la composition finale du cheveu. La deuxième variable qui détermine la distribution des substances le long de la longueur des cheveux est son taux de croissance et la succession des phases anagène, catagène et télogène. Le troisième paramètre important à considérer est la fréquence de prise: unique, occasionnelle, variable en dose ou continue.

Cependant, d'autres facteurs de confusion sont parfois présents dans des circonstances spécifiques, qui peuvent modifier la distribution attendue des substances étudiées dans les cheveux. Par exemple, alors que le sang ne peut libérer ses constituants qu'à l'intérieur du bulbe, la sueur et le sébum peuvent être dispersés le long d'une plus grande partie de la tige du cheveu, d'où une absorption diffuse des xénobiotiques.

d - Facteurs individuels :

En général lorsque les résultats expérimentaux ne pouvaient être ni prédits ni rationalisés, la raison était généralement attribuée à plusieurs aspects de la variabilité individuelle, dont les

contributions particulières ne peuvent être ignorées et dont les effets doivent être considérés comme un tout.

Parmi les facteurs individuels, les polymorphismes génétiques et les diverses formes d'expression génétique constituent les éléments les plus difficiles à traiter, car la source d'information fait généralement défaut, sauf dans les cas où certains dysfonctionnements métaboliques sont évidents. La caractérisation du phénotypage et du génotypage pourrait être augmentée à l'avenir pour découvrir une source potentielle de variabilité de l'analyse capillaire.

Des études sont faites pour examiner l'influence du sexe et /ou l'âge sur la réponse métabolique aux substances. Une étude de 199 femmes et 73 hommes est fait par Gareri et ses collègues pour vérifier les valeurs d'EtG et d'esters éthyliques d'acides gras (EEAG), les résultats pour l'EtG sont légèrement inférieurs pour les femmes par rapport aux hommes, alors qu'ils sont comparables pour les deux populations pour le EEAG. De plus, divers facteurs physiopathologiques peuvent être pris en compte, en particulier lorsqu'une décision est prise sur la quantification d'un biomarqueur cible. Par exemple, Hoiseth et ses collègues ont étudié la relation entre la fonction rénale et le niveau physiologique de la concentration en EtG des cheveux. Cette étude a montré que les patients atteints d'insuffisance rénale grave peuvent avoir des valeurs capillaires en EtG bien supérieures au seuil, même si un régime pauvre en alcool est suivi.

Alors que la concentration capillaire de cortisol, de testostérone et de divers métaux ont été récemment comparée chez des sujets obèses par rapport à une population de référence.

D'autres sources importantes sont basées sur les habitudes cosmétiques et d'hygiène, le mode de consommation de la substance (par exemple, le tabagisme, l'inhalation, l'injection, etc.) et sa fréquence (consommation régulière d'alcool par rapport à la consommation excessive d'alcool), ainsi que la prise de médicaments interférant physiologiques ou métaboliques ou de régimes alimentaires spéciaux. Enfin, les vêtements habituels peuvent induire une transpiration anormale des cheveux, en particulier des chapeaux, foulards, et devenir une source d'auto-contamination, car toute la longueur des cheveux est maintenue en contact avec la tête, la peau et ses émissions sébacées et transpirantes.

2-Technologies innovantes et avancées instrumentales :

Les questions cruciales de l'analyse des cheveux au cours des dernières années ont été représentées par le nombre de procédures analytiques différentes nécessaires pour réaliser un dépistage toxicologique exhaustif et la quantité minimale de cheveux nécessaire pour exécuter ces procédures sur des aliquotes séparées, avec une sensibilité suffisante. L'innovation continue et rapide ainsi que l'amélioration de l'instrumentation analytique ont radicalement modifié ce scénario ces dernières années, permettant d'exécuter des procédures de plus en plus complètes sur des aliquotes de cheveux de plus en plus petites.

a -Analyse toxicologique à large spectre :

Parmi les changements introduits par les nouvelles technologies instrumentales, la question de l'impact majeur, en termes d'applicabilité large, est peut-être représentée par la réalisation d'une analyse toxicologique générale, dans le but de la rendre totalement non ciblée. Des étapes importantes vers l'achèvement de grands criblages multi analytes et multi classes par analyse unique ont déjà été franchies en combinant la haute résolution chromatographique de la chromatographie liquide haute performance (HPLC) avec l'électronique rapide et la haute sensibilité des spectromètres de masse modernes à triple quadripôle. Alors que dans les années 2007-2009 plusieurs méthodes capables de cribler 15 à 20 substances au sein d'un seul cycle de chromatographie liquide (LC) ont été proposées, déjà en 2012, la détection et la quantification concomitantes d'un panel étendu de 35 drogues et métabolites licites et illicites ont été développées sur 50 mg de cheveux, atteignant la limite de concentration de quantification (LQ) dans la gamme de 0,5 à 100 pg / mg, et a été appliquée à 17 cas réels de médecine légale. De même, un protocole UHPLC-MS / MS a été utilisé pour déterminer 96 médicaments psychoactifs sur un échantillon de cheveux de 10 mg, donnant des valeurs LQ de 2 à 50 pg / mg pour la plupart des analytes d'intérêt.

b -Enquêtes très exigeantes :

Outre un dépistage très général, des déterminations très spécifiques et / ou exigeantes caractérisent également la frontière naissante de l'analyse capillaire. L'enquête à la suite des crimes facilités par la drogue (DFCs) représente un bon exemple d'objectif très exigeant pour l'analyse des cheveux. D'autres exemples d'investigations très exigeantes sont :

* la détection de certains métabolites de médicaments à une concentration particulièrement faible, nécessaire pour exclure la contamination externe;

* la discrimination quantitative des énantiomères, lorsque leur activité pharmacologique est différente ou qu'un seul stéréoisomère produit des effets psychoactifs; et

* la détermination des drogues licites et illicites sur aliquotes de cheveux extrêmement petits, ou même sur un seul cheveu.

L'analyse des médicaments chiraux est un autre sujet de recherche croissante en raison de sa pertinence en toxicologie clinique et médico-légale. Jusqu'à présent, un grand nombre de ces études ont été menées sur des échantillons de sang et d'urine, mais très peu sur la matrice kératinique, malgré sa propriété unique d'offrir une perspective intégrée dans le temps de la prise de médicaments. Ainsi, un recours plus fréquent à la séparation chirale dans l'analyse capillaire est attendu dans les années à venir.

La discrimination des stéréoisomères a été réalisée pour les amphétamines présentes dans des échantillons de cheveux par les méthodes GC-MS et LC-MS.

c -Disponibilité des cheveux par minute et analyse des cheveux simples :

Une autre demande exigeante pour l'analyse future des cheveux est la possibilité de déterminer les médicaments sur des quantités extrêmement infimes d'échantillons de cheveux, jusqu'à la limite d'un seul cheveu. Actuellement, l'analyse capillaire individuelle n'est plus un simple vœu pieux, mais est aujourd'hui un objectif concret, poursuivi en permanence avec un succès croissant. L'approche la plus prometteuse pour réduire la quantité de cheveux prélevés et les limites de détection des médicaments en même temps a utilisé un système de nano-HPLC à puce microfluidique, couplé à la spectrométrie de masse en tandem.

Exemples :- Dans la publication la plus récente, la technique nano-LC-MS / MS a été appliquée à la détermination de 14 drogues illicites et métabolites extraits de seulement 2 mg de cheveux, et a obtenu de faibles limites de détection pour tous les analytes allant de 0,10 à 0,75 pg / ng.

-Une analyse d'un seul poil a été récemment réalisée pour détecter des analytes organiques et inorganiques, principalement à des fins toxicologiques. La teneur en métaux lourds (Cd et Pb) dans un seul cheveu a été étudiée par couplage d'un vaporisateur électrothermique à bobine de tungstène avec une flamme argon hydrogène pour la spectrométrie de fluorescence atomique. En particulier, une détection absolue exceptionnelle une limite de 50 fg a été observée pour le Cd.

- Dans une autre étude, un large panel de métaux essentiels et toxiques a été déterminé dans un seul cheveu par ablation laser par spectrométrie de masse plasma à couplage inductif, atteignant des limites de détection (LOD) inégales de l'ordre de 1 à 900 pg / mg.

- une étude basée sur la détection de médicaments sur des poils uniques a été gérée à la fois par une exposition directe résolue dans l'espace à des particules en collision telles que des photons laser ou des gouttelettes d'électro-pulvérisation et d' une segmentation préliminaire minute des cheveux suivie de l'application de méthodes d'extraction et de traitement de petit volume dédiées pour chaque segment de cheveux. Dans les deux approches, la quantité absolue de médicament à détecter est extrêmement faible et, par conséquent, il existe des limites de sensibilité qui limitent fondamentalement les recherches sur un seul cheveu à une analyse ciblée.

Enfin, l'analyse d'un seul cheveu fournit un profil chronologique de prise de médicament plus détaillé qu'une mèche de cheveux, car plusieurs facteurs de confusion ne sont pas présents, tels que l'alternance des phases de croissance des cheveux et l'alignement incorrect des faisceaux de cheveux lors du prélèvement.

Chapitre IV : Exemples de certaines applications de l'analyse toxicologique dans les cheveux

1- Cas n°1: (L. Gheddar, J-S. Raul, P. Kintz, 2019)

- a- **Introduction :** L'hydrochlorothiazide (HCT) est un diurétique de la famille des benzothiadiazine, utilisé dans le traitement de l'hypertension artérielle. C'est une substance acide faible. En raison de ses propriétés diurétiques, l'hydrochlorothiazide peut être utilisé par les athlètes pour perdre du poids (sport de classe de poids comme le judo ou le catch) ou pour augmenter le taux d'élimination des agents anabolisants ou stimulants (utilisé comme agent de masquage). Il est classé comme substance interdite par l'Agence mondiale antidopage en compétition et hors compétition et fait l'objet d'un dépistage dans les laboratoires antidopage à l'aide d'urine.
- b- **Présentation du cas :** Au cours d'une période hors compétition, un laboratoire antidopage a analysé l'urine d'un athlète de 17 ans et a rapporté un résultat d'analyse anormale pour l'hydrochlorothiazide (environ 300 pg/mL). L'athlète a contesté le résultat et a refusé toute prise volontaire du médicament. Il a toutefois admis que la consommation accidentelle était possible puisque l'un de ses amis a été traité avec de l'hydrochlorothiazide. L'athlète a confirmé qu'il ne prend aucun traitement de ses cheveux dans les trois mois précédant l'échantillonnage. À la demande de son avocat, le laboratoire a reçu 3 mèches de cheveux de l'athlète pour établir le modèle d'utilisation de HCT au moment du contrôle urinaire. Les cheveux ont été collectés par un point de collecte américain avec une chaîne de traçabilité appropriée environ 3 mois après le contrôle urinaire et l'athlète a déclaré un taux de croissance des cheveux d'environ 1,5 cm/mois. Les poils mesuraient 10 cm de longueur et étaient blonds. La racine d'orientation au bout était maintenue.

c- **Enquête :**

Pour interpréter les résultats du test de l'athlète et obtenir de l'information sur la détectabilité de l'hydrochlorothiazide dans les cheveux, deux sondages ont été réalisés :

***Enquête 1 :** Un comprimé contenant 25 mg d'hydrochlorothiazide a été pris par voie orale par quatre volontaires en bonne santé (âgés de 20 à 57 ans). Un consentement écrit a été obtenu de chaque sujet après que l'étude a été expliquée. Pour chaque volontaire, deux mèches de cheveux ont été recueillies un mois après l'administration. Les mèches ont été

segmentées en 2 segments de 2 cm de longueur : **pour déterminer si la HCT était détectable dans les cheveux après une seule administration.**

***Enquête 2 :** Dix patients (hommes et femmes âgés de 45 à 70 ans) sous traitement médical quotidien avec l'hydrochlorothiazide depuis plus de 6 mois (6,25, 12,5 ou 25 mg/jour) ont participé à l'étude. Un consentement écrit a été obtenu de chaque sujet après que l'étude a été expliquée. Pour chaque personne, deux mèches de cheveux ont été recueillies. La longueur des cheveux était variable (2-10 cm), mais seul le segment proximal (2 cm) a été testé : **déterminer la plage de concentration de HCT dans les cheveux obtenus de sujets sous traitement quotidien.**

Des cheveux blancs pour la validation de la méthode ont été obtenus auprès du personnel du laboratoire. Après décontamination par dichlorométhane, extraction par UHPLC, séparation par chromatographie liquide waters acquityUPLCTM system (Waters corporation, Milford, MA, USA) using an Acquity UPLC HSS C18 column (150 mm x 2.1 mm, i.d. 1.8 µmparticle size) (6min), La détection a été effectuée à l'aide d'un spectromètre de masse triple quadripolaire (XEVOTM TQD, Waters Corporation, Milford, MA, USA) mass spectrometerequippedwith a Z-sprayTM-electrosprayionization source (ESI) and used in the negative mode (ES-) équipé d'une source d'ionisation par électropulvérisation Z-sprayTM et utilisé en mode négatif.

Dans le cas de la HCT, il y a un manque de connaissances sur la dose minimale détectable dans les cheveux ou sur ce qui peut être attendu après le traitement quotidien. Dans certains cas, il peut être nécessaire de tester un marqueur ou un métabolite mineur plutôt que la molécule administrée elle-même; par exemple, le glucuronide d'éthyle au lieu de l'éthanol est le composé d'intérêt dans les cheveux. Malheureusement, on ne sait rien de l'incorporation diurétique dans les cheveux.

d-Résultats :

Tableau n° 10: Résultats de l'enquête 1 et 2

Sujet	Dose	Couleur des cheveux	Concentration
1	25mg/j	Noir-gris	12
2	12.5 mg/j	Noir-gris	35
3	6.25 mg/j	Blanc	185
4	12.5 mg/j	Gris	111

5	12.5 mg/j	Blanc	1261
6	25 mg/j	Blanc	393
7	12.5 mg/j	Noir-gris	1058
8	12.5 mg/j	Gris	1845
9	12.5 mg/j	Noir	123
10	Non connu	Marron	406
11	Une dose de 25mg	Châtain	Non détecté
12	Une dose de 25mg	Marron	Non détecté
13	Une dose de 25mg	Châtain	Non détecté
14	Une dose de 25mg	Marron	Non détecté

Tableau n° 11: résultats de l'analyse des cheveux de l'athlète pour les concentrations de l'HCT :

Segments	0-2cm	2-4cm	4-6cm	6-8cm	8-10cm
Concentration	Non détecté	Non détecté	36pg/mg	Non détecté	Non détecté

e- discussion :

-On a conclu qu'une seule administration de HCT, même à la dose la plus élevée disponible, est indétectable chez les cheveux humains. Le problème de la détectabilité peut être expliqué soit par les propriétés des molécules, soit par l'instrument qui peut ne pas être assez sensible. Si cette dernière s'applique, on peut s'attendre à ce que les chances que la HCT soit détectée dans les cheveux ne se produisent que si les patients prennent de plus grandes doses.

-Manque absolu de relation entre le dosage et la concentration (non commun) : On peut prévoir que le HCT sera mal incorporé dans les cheveux parce qu'il n'y a aucune possibilité de liaison de charge électrique entre la mélanine qui est chargée négativement et le HCT qui n'est pas chargé positivement à pH 5,0 des cheveux. Contrairement à une molécule alcaline, le HCT, un médicament acide faible, doit avoir une faible capacité de pénétration à travers la membrane, en fonction du gradient de pH entre le sang et les follicules pileux.

-La couleur des cheveux n'a aucune influence sur l'incorporation du HC dans les cheveux (résultats de l'enquête 1). En effet, les cheveux pigmentés et non pigmentés ont donné les mêmes résultats.

-Cette étude a démontré qu'une dose unique de HCT n'est pas détectable dans les cheveux pour le moment. Cependant, des doses répétitives de HCT, administrées aux patients souffrant d'hypertension artérielle, étaient toujours détectables.

-Ce résultat (36 pg/mg) se situe dans la plage de ce qui a été observé chez les patients traités quotidiennement (limite inférieure de la plage). Comme une seule exposition n'est pas identifiable dans les cheveux et d'après les résultats des patients traités quotidiennement, **la concentration trouvée dans les cheveux de l'athlète a été interprétée comme correspondant à des expositions répétées.** Néanmoins, il n'est pas possible d'établir le dosage et la fréquence de la consommation. Cela est également dû au manque évident de littérature. Étant donné qu'une dose unique de 25 mg ne semble pas être détectable dans les cheveux, on prévoit donc que la contamination résiduelle par des suppléments ne devrait pas être détectable dans les cheveux.

2-Cas n°2: (Riffi. M, 2014)

- a- **Objectifs de l'étude :** Une étude est effectuée pour de déterminer la prévalence de l'exposition des ouvriers dans une tannerie par dosage du chrome(Cr) total, dans les cheveux puis dans les urines, et en suite, d'étudier la corrélation entre les concentrations de chrome urinaire et capillaire.
- b- **Matériel et méthodes :** Une spectroscopie d'absorption atomique SAA Analyst 800 « Perkin Elmer » a été utilisée. Les prélèvements urinaires et capillaires ont été réalisés en septembre 2012, chez 2 groupes de populations: un groupe de travailleurs et un groupe témoin. L'étude a porté sur 50 sujets exposés et 16 témoins.(tableau 12)

Tableau12 : Présentation des postes de travail et de la population de l'étude

Groupe	Nombre	Âge	Durée d'exposition	
Préparation des peaux brutes ¹	4	Varié de 24ans à 41ans	Entre 6mois et 19ans	Masculin
Rivière ²	14	Varié de 40 à 51ans	Entre 5mois et 28ans	Masculin

¹Personnel affecté au triage des peaux brutes.

²Personnel chargé de lavage et préparation des peaux brutes.

Tannage—retannage ³	13	Variede31à53ans	Entre6mois28ans	Masculin
Finissage ⁴	6	Varie de 36à56ans	Entre 6mois27ans	Masculin
Manutention ⁵	7	Varie de 28à45ans	Entre 1et20ans	Une femme et 6 hommes
Maintenance des foulons ⁶	6	Varie de 22à51ans	Entre 6mois29ans	Masculin
Témoin	16	Varie de 28à56ans	—	3 femmes et 13 hommes
Total	66	—	—	62 hommes et 4 femmes

c- Résultats :

Les résultats de l'étude sont présentés dans le tableau 13 ci-dessous.

Tableau 13 : Répartition destaux duchromeurinaireetcapillaire.

Cr urinaire(g/L)	Population«exposée»	Population«témoin»	Cr capillaire(ng/mg)	Population «exposée»	Population « témoin »
Entre0et0,6	39%	62%	Entre0et 0,6	2%	19%
Entre0,6et5	46%	38%(entre0,6 et3g/l)	Entre0,6et5	65%	81%
Entre5et10	13%	—	Entre5et10	19%	—
Entre10et15	2%	—	>10	14%	—

³Personnel préposé à l'alimentation et l'évacuation des foulons (en contact direct avec le Chrome).

⁴Personnel affecté au traitement des peaux tannées.

⁵Personnel chargé du déplacement des peaux tannées.

⁶Personnel responsable de la maintenance des foulons.

d- Discussion :

-Le tannage des peaux par les dérivés chromatisés est la cause d'une exposition chronique au chrome, vérifiée par des concentrations relativement élevées, retrouvées dans les urines et les cheveux.

-Toutefois, cette étude visait principalement à attirer l'attention sur l'intérêt du prélèvement des cheveux dans l'évaluation des risques chimiques liés à une exposition professionnelle; d'après les résultats obtenus, nous pouvons relever les observations suivantes:

- un protocole de lavage adapté selon les conditions d'exposition, et une procédure de prétraitement choisie en fonction de la substance à analyser, sont à l'origine de résultats satisfaisants dans le périmètre de la surveillance biologique des expositions, d'ailleurs, l'étude a montré de façon comparative que les concentrations moyennes de chrome capillaire chez les tanneurs (agents de tannage et retannage), tout comme les teneurs moyennes de chrome urinaire, sont significativement plus élevées (Crurinaire=2,48g/L, Cracapillaire=4,93ng/mg) que celles des autres groupes;
- le dosage du chrome «endogène» (après lavage) reflète l'exposition à long terme, par toutes les voies, contrairement au chrome «exogène» qui peut refléter une exposition récente au chrome atmosphérique;
- contrairement aux autres milieux analysés, les cheveux pourraient offrir à la surveillance biologique, l'avantage d'avoir des renseignements sur l'utilisation des moyens de protection et donner une idée sur la voie principale d'exposition (inhalation ou ingestion).

3-Cas n°3 :Preuve de dépendance par les anesthésistes documenté par analyse capillaire (P. Kintz et coll, 2005)

a- **Introduction :** La dépendance chimique est une maladie qui peut affecter toute profession. Parmi les professionnels de la santé, les anesthésistes représentent un groupe particulier de préoccupations. Un anesthésiste avec des problèmes liés à la drogue pourrait être difficile à reconnaître, surtout au début de la phase de dépendance. Le dépistage aléatoire de l'urine est très controversé chez les professionnels et n'apporte pas d'informations utiles. En offrant la détermination de l'exposition à long terme aux médicaments, les cheveux semblent être un spécimen approprié pour documenter la dépendance.

b- Présentation des cas et de l'enquête :

Ce rapport présente quatre cas authentiques d'anesthésistes accro aux dérivés du fentanyl, dont la preuve a été fournie par analyses capillaires.

***Prélèvements :** On a demandé au laboratoire de tester l'anesthésiste dans quatre affaires médico-légales. Les cheveux ont été coupés dans le vertex postérieur aussi près que possible du cuir chevelu et conservés à la température ambiante. Les cas 1 à 3 sont des sujets vivants, soupçonnés de dépendance. Le cas 4 était un cadavre. Des échantillons de cheveux vierges de dérivés du fentanyl ont été obtenus du personnel de laboratoire.

***Décontamination et extraction :** Les mèches de cheveux ont été décontaminées deux fois avec du méthylènechlorure (5 mL, 2 min). Environ 50 mg de poils ont été incubés une nuit dans 1 mL de tampon phosphate à pH 8,4, dans la présence de 10 ng de fentanyl-d5 utilisé comme étalon interne. Après une extraction liquide/liquide avec 5 mL d'un mélange de chlorure de méthylène/isopropanol/n-heptane et l'évaporation à la sécheresse, le résidu a été reconstitué dans 30 mL de méthanol.

***Analyse :** Une chromatographie GC-MS/MS d'une aliquote de 1,5 mL de l'extrait dérivé a été effectuée dans la colonne d'un chromatographe en phase gazeuse Hewlett Packard (Palo Alto, CA) (série 6890). Le flux de gaz porteur (hélium, degré de pureté N 55) à travers la colonne (colonne capillaire HP5-MS, phényl à 5 % méthylsiloxane à 95 %, 30 m 0,25 mm d'épaisseur de film, c.-à-d. 0,25 mm d'épaisseur 1,0 ml/min).

c- Résultats :

*Un anesthésiste de 50 ans était soupçonné d'être toxicomane. Plusieurs analyses d'urine ont été jugées négatives. Une tige capillaire de 3 cm a été collectée à la demande du personnel médical. Le résultat est positif avec un taux de fentanyl à 644 pg/mg, la concentration la plus élevée jamais signalée. L'anesthésiste a été inscrit sur la liste à la retraite. Il s'est suicidé 3 mois plus tard par injection simultanée de mépéridine et d'atracurium.

*Un anesthésiste de 42 ans était soupçonné d'abus de stupéfiants et de vol qualifié. Comme le chef du service a remarqué un comportement erratique et inhabituel associé aux plaintes des collègues, une analyse capillaire a été entreprise. Du fentanyl (101 pg/mg) et du sufentanil (2 pg/mg) ont été décelés dans ses cheveux (0 à 6 cm). L'anesthésiste a été congédié.

*Un anesthésiste de 40 ans, travaillant pour une clinique privée, était soupçonné d'être toxicomane, mais plusieurs analyses d'urine ont été jugées négatives. Le mauvais rendement au travail a été attribué au sujet. Un segment de 0 à 4 cm de ses cheveux a montré un abus de poly-drogues, avec identification simultanée d'alfentanil (30 pg/mg), de codéine (210 pg/mg) et de midazolam (160 pg/mg). L'anesthésiste a été congédié.

*Un infirmier anesthésiste de 46 ans a été retrouvé mort dans les toilettes d'un hôpital. Comme de nombreuses ampoules étaient manquantes au cours des dernières semaines, il était soupçonné d'être toxicomane. Des marques d'aiguille ont été observées sur son bras gauche. L'analyse du sang cardiaque a révélé une surdose aiguë d'alfentanil (45 ng/mL) associée à l'éthanol (1,32 g/L). L'exposition chronique aux dérivés du fentanyl a été documentée par l'analyse d'un cheveu de 3 cm, où l'alfentanil (2 pg/mg) et du fentanyl (8 pg/mg) ont été détectés.

d- Conclusion :

Il semble que le problème de la dépendance par les anesthésistes n'est toujours pas reconnu, probablement le résultat d'une formation inadéquate dans ce domaine. Même si 2 à 3 % des physiciens et des infirmiers sont préoccupants, la prévalence des enquêtes médico-légales est très faible, comme la plupart des cas sont résolus à l'interne. Dans de telles situations, l'analyse capillaire devrait être utilisée pour compléter l'analyse conventionnelle de sang et d'urine à mesure qu'il augmente la fenêtre de détection des drogues. La collecte est non invasive, peut se faire sous étroite supervision (personnel médical, juge, police) et le stockage est facile à température ambiante. Sélectivité et la sensibilité de MS/MS sont une condition préalable pour tester avec succès pour les dérivés du fentanyl.

4-Cas n°4 : Détection du gamma-hydroxybutyrate dans les cheveux : validation d'une méthode par CG-SM et Méthodes LC-MS/MS et application à un cas réel

a- Présentation du cas :

Un homme âgé de 40 ans a été arrêté par la police au cours d'une enquête sur le commerce sur Internet du butyrolactone gamma (GBL), un solvant industriel qui peut être utilisé comme précurseur du GHB (substance interdite). L'homme était persécuté pour un crime lié à la drogue ayant acheté de grandes quantités de GBL pour préparer le GHB et, supposément, le vendre sur le marché illicite. Sa justification était fondée sur un long historique de GHB abus qui l'a rendu accro à la drogue et l'envie de le faire. Ses premiers contacts avec le GHB remontent à une approche thérapeutique de l'abus d'alcool avec Alcover. Suite à la thérapie pendant des années, il était devenu accro de sorte qu'il avait un comportement obligatoire pour l'approvisionnement en GHB. Des signes de fringales et des symptômes de sevrage ont été observés lors d'une visite médico-légale autorisée par le juge deux mois après son arrestation, convertie en « assignation à résidence ».

b- Analyse :

Le sujet a consenti à subir un test capillaire pour prouver ses antécédents d'abus; il avait de longs cheveux bruns (environ 17 cm, coupé à partir du postérieurvertex à la surface du cuir chevelu), il était donc possible d'enquêter sur une durée de vie d'environ 10 à 14 mois, la croissance moyenne des cheveux de 1,0 à 1,5 cm/mois. Dans les mois de son arrestation à l'échantillonnage de cheveux, le sujet sous l'enquête n'a eu aucun contact avec le médicament, par la suite la teneur en GHB dans le segment de cheveux proximal de 3 cm représentent raisonnablement son niveau endogène. Les échantillons de cheveux ont été décontaminés et segmentés en 10 fragments, les trois premiers segments étaient de 1 cm de long, les autres 2 cm de long. Les auteurs ont voulu documenter en détail la période de vie la plus récente de l'homme, et la segmentation de 1 cm s'est avérée utile pour détecter un niveau plus élevé juste à la racine, et deux niveaux plus bas par la suite. Si nous avons utilisé un segment de 3 cm de long pour la même période, comme le suggèrent les publications, les deux mois sans période exogène de GHB auraient été confondus par le niveau plus élevé de GHB à la racine. Sur chaque segment, les deux méthodes (GC-MS et LC-MS/MS) ont été appliquées aux aliquotes de 25 mg.

c- Résultats :

Résultats de l'analyse capillaire sont présentés dans le tableau.

Tableau 14 : résultats de l'analyse segmentaire des cheveux de sujet par GC-MS et LC-MS/MS

Segment	La distance de la racine (cm)	Concentration de GHB (ng/mg)	
		Méthode GC-MS	Méthode LC-MS/MS
1	1	3.52	4.08
2	2	1.49	1.26
3	3	1.20	1.38
4	5	4.74	4.56
5	7	7.97	6.48
6	9	8.93	7.23

7	11	9.53	8.56
8	13	8.65	7.39
9	15	8.22	8.95
10	17	10.34	9.15

Les résultats ont clairement démontré une nette diminution de la concentration de GHB au cours de la période correspondant à l'arrestation et à la détention à domicile. Les très faibles concentrations détectées dans les 2ème et 3ème cm du cuir chevelu représentent bien le niveau physiologique de GHB du sujet, en accord avec le niveau normal observé dans les cheveux humains (2 ng/mg). La concentration assez élevée observée dans le premier segment était raisonnablement attribuable à l'incorporation de GHB endogène par la sueur au niveau des racines, comme l'indiquent les publications.

Conclusion :

A travers les recherches effectuées, nous avons réalisé que les matrices alternatives en analyse toxicologique occupent de plus en plus une place impressionnante, en raison de la simplicité de collecte, le caractère non invasif des prélèvements, les voies d'élimination et de fixation des xénobiotiques sont bien connus, une grande fiabilité des résultats et la possibilité de faire une analyse rétrospective que ce soit en toxicologie clinique, médico-légale ou professionnelle. De plus ces matrices sont à l'abri des phénomènes de redistribution post mortem qui affectent largement les matrices conventionnelles.

Plus particulièrement, les cheveux présentent beaucoup d'intérêts en analyse toxicologique. En effet, ils permettent d'établir un profil de toxicomanie, de contrôler le sevrage et de suivre l'observance thérapeutique ainsi que la mise en évidence d'exposition aux xénobiotiques in utéro, l'infraction à la législation sur les stupéfiants, la soumission chimique et la détermination de la fréquence d'exposition c'est à dire s'il s'agit d'une prise unique ou chronique.

Au cours des années, l'utilisation des cheveux dans l'analyse toxicologique a connu une évolution spectaculaire avec une grande fiabilité. Cependant les résultats finaux sont conditionnés par les processus biologiques, physiques et chimiques allant de l'individu lui-même jusqu'à l'environnement. En fait, le nombre de procédures analytiques différentes nécessaires pour réaliser un dépistage toxicologique exhaustif et la quantité minimale de cheveux nécessaire pour exécuter ces procédures sur des aliquotes séparées, avec une sensibilité suffisante, posent des défis pour développer en continue des technologies innovantes et rapides et améliorer l'instrumentation analytique basée sur l'analyse à large spectre et l'analyse d'un simple cheveu, permettant ainsi d'exécuter des procédures de plus en plus complètes sur des aliquotes de cheveux de plus en plus petites.

Les références bibliographiques :

- 1) -Adouani.I. Maître-assistant en analyses pharmaceutiques. 14/04/2020. Cours de chimie analytique. 3^{ème} année docteur en pharmacie. Université Ferhat Abbas Sétif-1.
- 2) - Allain.P. Rappel de physiologie rénale. 2020. Disponible sur : <https://www.pharmacorama.com/pharmacologie/medicaments-elements/elimination-urinaire-elements-diuretiques/rappel-physiologie-renale/>.
- 3) - Allibe. A, Eysseric-Guerin. H et autres. Concentration des Cyanures dans les prélèvements sanguins post-mortem : difficultés d'interprétation. Toxicologie analytique et clinique. Elsevier Masson. vol 28. p.166-168. 2016.
- 4) - Alvarez. J-C. Les prélèvements biologiques post mortem et sur le vivant. Traité de toxicologie médico-judiciaire. Elsevier Masson. 2012. p.198-217. - Alvarez. J- C. Dosage des médicaments et des toxiques. Biologiste info 2015.P. 54.
- 5) -Andujar.P. Toxicocinétique. 2018. Disponible sur :http://www.centresantipoison.net/paris/DIU_Tox_Med_2017_2018/20171117/DIU_Tox_Med_2017_18_P_Andujar_Toxicocinetique.pdf
- 6) - Andujar.P. Toxicocinétique. Service de Pneumologie et Pathologie Professionnelle CHI Créteil. Université Paris-Est. France. 17 Novembre 2017.
- 7) - Baratz.R, Radm.R et Williams.L. Hair analysis panel discussion : exploring the state of the science. Atlanta.Lexington : eastern research group. 2001.
- 8) - Barbosa. J, Faria. J et coll. Hair as an alternative matrix in bioanalysis. Future science. Vol 5 n°8. 2013.p. 901.
- 9) - Bennett.G, Davies.E et Thomas.P. Is oral fluid analysis as accurate as urinalysis in detecting drug use in a treatment setting? vol 72. 2003. p.256-269.
- 10) Bensakhria. A. Formes d'intoxication. Toxicologie générale- généralité. 2018. disponible sur <https://www.analyticaltoxicology.com/category/toxicologie-generale/>
- 11) Ben Youssef Samir ,Jamel BELGUITH, Rim Hadiji. (2017). *introduction a l'enseignement de toxicologie*. ecole nationle de medecine veterinaire SIDI THABET.
- 12) -Berta Laurent.*Santé et nutrition*. 2020, Juillet 23. Récupéré sur: <https://www.laurentberta.com/article-nutrition/biologie-biochimie-physiologie/estomac-suc-gastrique>
- 13) - Bertola.E, Argob.A, Procacciantib.P et coll. Detection of gamma-hydroxybutyrate in hair: validation of GC–MS and LC–MS/MS methods and application to a real case. Pharmaceutical and Biomedical Analysis. Elsevier B. vol 7. n°5. 2012. p.18- 522.
- 14) - Bévalot.F. Intérêts et limites de la bile et de l'humeur vitrée comme matrices alternatives en toxicologie médico-légale. Ecole Doctorale Interdisciplinaire Sciences-Santé. Université Claude Bernard Lyon 1. Lyon. 23 Janvier 2015.
- 15) - Bévalot.F, Cartiser.N, Bottinelli.C, Guitton.J et Fanton.L. Analyse des xénobiotiques dans l'humeur vitrée en toxicologie médico-légale. Médecine légale. vol 7. n°4. 2016. p.153-179.
- 16) - Bisch.F. Les larmes, en avoir ou pas. La Revue d'Homéopathie. Elsevier Masson. vol 1. n°1. 2010. p.31-33.
- 17) - Biswas.G. Forensic medicine and toxicology including clinical and pathological aspects. Jaypee Brothers Medical Publishers. New Delhi. India. 2015. p.112.

- 18) - Bogusz.M-J. Hand Book of Analytical Separation. Forensic science. vol 6. 2008. p.653-688.
- 19) - Bottinelli.C et Bévalot.F. Etude de stabilité de l'amphétamine de méthylènedioxyde amphétamine, de la kétamine et de sept nouveaux produits de synthèse dans le sang, la bile et l'humeur vitrée. Toxicologie analytique et clinique. vol 29. 2017. p.552-553.
- 20) - Brandenberger.H et Maes.RAA. Toxicologie analytique pour les chimistes cliniques, judiciaires et pharmaceutiques. Berlin : Walter de Gruyter. 1997. p.719(9).
- 21) - Brunet.B et Pélissier-Alicot. A.-L. Redistribution post-mortem, interprétation des résultats. Traité de toxicologie médico-judiciaire. Elsevier Masson SAS. 2012. p.51-71
- 22) - Brunet.B et Mura.P. L'humeur vitrée en toxicologie médico-légale. Revue de la littérature et application. Annales de toxicologie analytique. vol 24. n°1. 2012. p.9-15.
- 23) -Brunzel.AN. Fundamentals of urine and body fluid analysis. Elsevier Saunders. 2013. p.72.
- 24) -Buffoli. B, Rinaldi. F et coll. The human hair: from anatomy to physiology. International journal of dermatology. vol 53. n°3. 2014. p.331-341.
- 25) - Burcham.P-C. An introduction to toxicology. Springer-Verlag. 2014. p.83.
- 26) -Cambier.J. Bulletin de l'académie nationale de médecine. L'académie nationale de médecine. vol 18. n°5. 2001. p.907.
- 27) -Caplan.Y. a. G. B. Alternative Specimens for Workplace Drug Testing. Journal de toxicologie analytique. vol 25. 2001. p.396-399.
- 28) -Capolaghi.B. Strategie analytiques en toxicologie d'urgence. Annales de toxicologie analytique. vol 12. n°4. 2000. p.275.
- 29) -Compagnon.P, Danelb.V et Goullé.JP. Place des analyses toxicologiques, réanimation. Société de réanimation de langue française. vol 15. 2006. p.370-373.
- 30) -Cooper.GAA. Anatomy and Physiology of Hair, and Principles for its Collection. Hair Analysis in Clinical and Forensic Toxicology. Academic press Elsevier. 2015.p.1- 22.
- 31) -Coquerel. A & Lemaire-Hurtel. A-S. Devenir d'un xénobiotique dans l'organisme. Traité de toxicologie médicojudiciaire. Elsevier Masson SAS. 2012. p.3-49.
- 32) -Cirimele.V. Incorporation des xénobiotiques dans les cheveux. Revue française des laboratoires.n°282. 1996. P.31-35
- 33) -Curtis. D.K, Jhon.B et Watkins.liv. Absorption, Distribution and Excretion of toxicants. Casarett and Doll's essentials of toxicology. Mc Grow Hill Medical. 2015. p.61-73.
- 34) -Danel.V. Lavage gastrique. Université Grenoble Alpes, France. Décembre 2019
- 35) -Danziger.J, Zeidel.M et Parker.J M. Clearing waste. Renal physiology : A clinical approach. 2012. p.52-69.
- 36) - Deslandes. G, Monteil-Ganiere.C, R. Bouquie.R et coll. Interet du suivi toxicocinétique : à propos de 5 cas d'intoxication aiguës médicamenteuses. Toxicologie analytique et clinique. vol 26. n°2S. 2014. p.S42
- 37) -Fazio.D.V et Gosselin.M. Toxicologie forensique. Manuel de l'enquête forensique. Belgique. 2011.p.241-264.
- 38) -Fabian. D, Baumgartner. M R et Michael Koller.C.F. Sens et non-sens des analyses capillaires. Swiss Medical Forum. vol 22. 2016. p.469.

- 39) - Forest. M-G, Monneret. M.I, Asensio.M. J. Prise en charge des ambiguïtés sexuelles : hormonologie du liquide amniotique. *Journal de pédiatrie et de puériculture* n°2. 2002. P: 101.
- 40) - Gallardo. E et Queiroz.JA. The role of alternative specimens in toxicological analysis. *Biomedical chromatography*. vol 22. n°8. 2008. p.795-821.
- 41) - Garg.U et Cooley.C. Testing of Drugs of Abuse in Oral Fluid, Sweat, Hair, and Nail: Analytical, interpretative, and Specimen Adulteration Issues. *Critical Issues in Alcohol and Drugs of Abuse Testing*. 2019.
- 42) -Gheddar.L, Raul.J-S et Kintz.P. First identification of a diuretic, hydrochlorothiazide, in hair: application to a doping case and interpretation of the results. France. 2019.
- 43) -Gigante. Rein et voies urinaires : Anatomie de la vessie, la prostate, et miction, 2017.
- 44) -Gicquel T, Lepage S et Morela I. Apports de l'analyse des cheveux en toxicologie. *Revue francophone des laboratoires*. 2013. Elsevier masson .n°454. p . 69-72.
- 45) -Goullé JP, Mahieu L et coll. Validation d'une technique de dosage multi- élémentaire des métaux et métalloïdes dans les ongles par ICP-MS. Valeurs usuelles chez 130 sujets volontaires. *Annales de Toxicologie Analytique*. 2007. Vol. XIX, n° 2. P : 125- 134.
- 46) -Goullé JP, Noyon J et coll. Analyse des cheveux : intérêt en pratique médicale hospitalière. *Revue française des laboratoires*, 1996, N ° 282. P : 56-60.
- 47) - Goullé JP, P Kintz, Un nouveau moyen d'investigation biologique : l'analyse des cheveux. Intérêt en pratique médicale. *Rev Méd Interne*. Elsevier, Paris. 1996; vol 17. P . 826-835
- 48) -Gray T &Huestis M. Bioanalytical procedures for monitoring in utero drug exposure. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2007.Vol : 388, p : 1455–1465.
- 49) - Griffiths JL. An investigation of the use of alternative matrices in clinical and forensic toxicology. A thesis submitted to the University of Birmingham for the degree of master of philosophy, School of Biosciences University of Birmingham, 2012, p. 24, 64,143.
- 50) - Hanslick.T, Flahault A, *Urologie et néphrologie*,collège nationale des enseignants de médecine interne. 2013.
- 51) -Harkey MR. Anatomy and physiology of hair. *Forensic Science International*.El sevier ireland. 1993. Vol 63, n°1–3. p. 9-18.
- 52) - Hecker-Bechouch C. Allaitement, passage des xénobiotiques de la mère au nourrisson via le lait maternel et aspects pratiques : médicaments du post-partum, hygiène de vie et pathologies maternelles courantes, diplôme d'état du docteur en pharmacie, université de Nantes. 2005.
- 53) -Hoizey G, Valet D et coll. Syndrome de Münchhausen par procuration : à propos d'un cas d'intoxication par la lamotrigine en pédiatrie documenté par l'analyse des cheveux.*Toxicol Anal Clin* 2016. vol 28. n°S38.
- 54) - Hudak ML, Tan RC,What is Neonatal Abstinence Syndrome (NAS). *Committee on Drugs*, et al. *Pediatrics*. 2012; vol : 129; p : 540-60.
- 55) -Huestis MA et Oyler JM et coll.1999. Sweat testing for cocaine, codeine and metabolites by gas chromatography-mass spectrometry. *J chromatogr biomed sci appl*. 1999. P : 733, 247-64.
- 56) -INRS. (2020). Santé et sécurité de travail.
http://www.inrs.fr/publications/bdd/biotox/dosage.html?refINRS=Dosage_54 .

- 57) - Jacquemin, E. (1998). Sécrétion biliaire. Médecine thérapeutique , pp. 179-185.
- 58) - Jenkins AJ, Drug Testing in Alternate Biological Specimens, USA: Humana Press-Springer, 2008. P: 6, 8, 11, 12, 21, 22, 34, 43-48, 68-78, 84, 85, 102, 103, 114
- 59) - Jones GR. Post mortem toxicology: specimens and other exhibits. In: Negrusz A and Cooper GAA. Clark's analytical forensic toxicology. UK: London: PhP: pharmaceutical press, 2^{ème} édition. 2013. P. 192, 193, 194.
- 60) -Kerrigan S. Sampling, storage and stability In: Negrusz A and Cooper GAA. Clark's analytical forensic toxicology. UK: London: PhP: pharmaceutical press, 2^{ème} édition. 2013. P: 336,337,340 -345.
- 61) -Kintz P. Cannabis et cannabinoïdes de synthèse. À propos de leur détection biologique. Bulletin de l'académie nationale de médecine France : El sevier masson. Vol : 204, n°6. 2020. P: 577-582.
- 62) -kintz P. Caractérisation des stupéfiants dans l'air expiré. X-Pertise Consulting&Institut de médecine légale.
- 63) -Kintz P. Excretion of MBDB and BDB in urine, saliva, sweat following single oral administration. Journal of Analytical Toxicology, Vol : 21:5705. 1997.
- 64) -Kintz P. Hair Analysis In Clinical And Forensic Toxicology. USA : El Sevier & Academic Press. 2015.
- 65) -Kintz P. Interprétation des marqueurs de l'éthanol dans les cheveux (EtG et FAEE) en regard des paramètres sanguins usuels et de leurs fenêtres de détection. La revue de médecine légale. Elsevier Masson SAS. vol 4. 2013. P.107-111.
- 66) - Kintz P. Place des cheveux dans le suivi du dopage. EMC - Biologie médicale; vol 1 .n°1. 2006.p.1-3.
- 67) -Kintz P. Traité de toxicologie médico-judiciaire. France : El sevier Masson. 2^{ème} édition. 2012. P. 257-273.
- 68) - Kintz.P. Value of hair analysis in postmortem toxicology. Forensic Science International France: StrasbourgElsevier Ireland Ltd. Vol 142. 2004. P. 127–134.
- 69) -Kintz P, Spiehler V, Negrusz A, Cooper GAA. Alternative specimens. In: Negrusz A and Cooper GAA. Clark's analytical forensic toxicology. UK: London: PhP: pharmaceutical press, 2^{ème} édition. 2013. P: 153-179.
- 70) -Kintz P, Villain M, Bargul Yet coll. Testing for Atropine and Scopolamine in Hair by LC-MS-MS after Datura inoxia Abuse. Journal of Analytical Toxicology. Vol : 30 n° 7. 2006 P: 454–457, <https://doi.org/10.1093/jat/30.7.454>.
- 71) -Kintz P, Villain M, and Cirimele V. Determination of Trimeprazine-Facilitated Sedation in Children by Hair Analysis. Journal of Analytical Toxicology. Vol 30. 2006. P: 400-402.
- 72) -Kintz P, Villain M, Dumestre V, Cirimele V. Evidence of addiction by anesthesiologists as documented by hair analysis. Forensic Science International. Elsevier. Vol : 153. 2005.P: 81–84.
- 73) -KONSTANTINIDI EM., LAPPAS et coll. Exhaled Breath Condensate: Technical and Diagnostic Aspects. ScientificWorldJournal, editor : B Balbi.2015.
- 74) -Kronstrand R, Scott K. Drug Incorporation into hair. In: Kintz P, editor. Analytical and practical aspects of drugs testing in hair. Boca Raton, FL: CRC Press. 2007. p. 1-23.

- 75) -Kuban P et Foret F. Exhaled breath condensate: determination of non-volatile compounds and their potential for clinical diagnosis and monitoring. A review. *Analytica Chimica Acta* Vol 805.2013. P: 1-18.
- 76) -Labat L. La préparation des matrices biologiques pour l'analyse des métaux, *Annales de toxicologie analytique*, Société Française de Toxicologie Analytique.vol 22 n°2: 81-88.2010. P: 82,83.
- 77) Lacroix Anne-Laure, Renaud Bouvet, Sylvie Lepage, Alain Baert, Marlène Abondo, Alain Feuillu, Jean-Pierre Anger, Marie-Annick Le Gueut, Isabelle Morel. *Annales de Toxicologie Analytique*. 2010; 22(3): 141-147.P.147.
- 78) - Lamy S, Sigward J-M, Florence Thibaut. Outils de mesure utilisés pour évaluer la consommation d'alcool, de tabac et de cannabis chez la femme enceinte:questionnaires et marqueurs biologiques.Editions Matériologiques | « PSN ». Vol : 12.2014. p : 37 à 50.
- 79) - Lapostolle. F, Gourlain.H, Adnet.F et Lapandry.C. Identification des toxiques et dosages. Site Web Urgences-serveur. SD. Disponible sur: https://urgences-serveur.fr/IMG/pdf/identification_toxiques_dosages_sfar99.pdf
- 80) - Lebrun-Vignes Bénédicte,Bris Céline, Bénédicte Lelievre. Diquet Bertrand. L'ongle pathologique: Apport du laboratoire. *Francophone des laboratoires.n°432*. 2011.P : 79 et 80.
- 81) - Lombard Alain.Toxicologie industrielle. *L'expertise de technique et scientifique de référence*. 2015, Septembre 10. Récupéré sur Technique de l'ingénieur: <https://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/environnement-securite-th5/risques-chimiques-toxicologie-et-ecotoxicologie-42156210/toxicologie-industrielle-se1605/>.
- 82) -Madej KA. Analysis of meconium, nails and tears for determination of medicines and drugs of abuse. El sevier. *Trends in Analytical Chemistry*, Vol. 29, n°3, 2010.
- 83) - Mahiau-Caputo. D et Sentilhes.L. Physiologie du liquide amniotique. *Gynécologie/Obstétrique*. 2008. p.3-4.
- 84) Malalar, F. Chromatographie bidimensionnelle, Nicaragua, 2009
- 85) - Manus JM. P. Kintz, *Toxicologie : matrices alternatives et immunochimie*. Revue française des laboratoires. n° 290. 1997.
- 86) - Marechal.C et V.H.-P. Évaluation de l'exposition à l'amitriptyline, principe actif médicamenteux, chez les opérateurs de fabrication, avec mise en place d'une biométrie : apport de biologiste. Examen complémentaire pour la biométrie de l'exposition aux produits chimiques. INRS. 2004. p.173.
- 87) - Margalho C, Corte-Real F et coll. Alternative specimens in forensic toxicology : Analysis of drugs of abuse. Thèse de doctorat en biochimie, Université de Beira interior, 2017. Page :13, 14,16, 22,43,44.
- 88) - Ménard S. Nouveau-Né A Risque De Syndrome D'abstinence Néonatale Facteurs De Risques Et Interventions Précoces Mère Enfant. 2017
- 89) - Margossian Nichan. *Risques professionnelles Caractéristiques Réglementations Prévention*.Paris: Dunod. 2006. P: 239.
- 90) -Mettrie.R, Saint-L et coll. Shape variability and classification of human hair: a worldwide approach. *Human Biology*. vol 79. n°3. 2007. p.265-281.

- 91) Metz Nancy. Chromatographie en phase liquide HPLC. http://www4.ac-nancy-metz.fr/physique/ancien_site/CHIM/Jumber/HPLC/Chromatographie_en_phase_liquide.htmhttp://
- 92) - Milan. Nathalie, Claire.Martin. L'incorporation des xénobiotiques dans le cheveu :interet en toxicologie judiciaire. *Revue d'actualité chimique*. Octobre - Novembre 2013. p. 115.
- 93) Monique TILLARD. La technique ICP-MS couplage torche plasma etspectromètre de masse.2016. https://www.fed-chimiebalard.cnrs.fr/IMG/pdf/M_Tillard.pdf
- 94) - Moulsmas M, L. A.-Q.-F. Méthodes analytiques . Dans Kintz P.*Traité de toxicologie médico-judiciaire*. Elsevier Masson SAS.2012. pp. 139-194.
- 95) -Nakahara Y. Hair analysis for abused and therapeutic drugs. *Journal of Chromatography B*,. Elsevier Science B.V. vol: 733. 1999. 161–180.
- 96) -Nakahara Y, Shimamine M, and Takahashi K. Hair Analysis for Drugs of Abuse. III. Movement and Stability of Methoxyphenamine (As a Model Compound of Methamphetamine) along Hair Shaft with Hair Growth. *Journal of Analytical Toxicology*, Vol. 16, 1992.
- 97) -Nedrusz A and Cooper GAA. *Clarck s'Analyticalforensictoxicology*. pharmaceuticalpress, 2013.
- 98) - Nicolas.A. Rôle du laboratoire de toxicologie professionnelle dans le domaine de la biométrieologie : apport de biologiste. Examen complémentaire pour la biométrieologie de l'exposition aux produits chimiques. INRS. 2004. p.173-174.
- 99) -Nisse.C. Place de biométrieologie dans la surveillance des expositions professionnelles à des agents chimiques : indications et limites. 50em congres de la société de toxicologie clinique .29 et 30 Novembre 2012.
- 100) -Nisse.C.et D. B.-M. Recommandations des bonnes pratiques pour la surveillance biologique de l'exposition professionnelle aux agents chimiques (SBEP): recommandations de la Société française de médecine du travail, associée à la Société française de toxicologie analytique. *Toxicologie analytique et clinique*. 2017. 4.
- 101) - Nouaigui, F. B. H (2009). *Programme National de Gestion des Risques Professionnels : Guide de prévention N°3: Protocoles de prévention en cas d'Exposition Professionnelle au Plomb*. . ISST.
- 102) - Olivier Roussel, S. S. Recherche des causes toxiques de la mort. *Revue francophone des laboratoires*. P. 35-40.2017, Février 1.
- 103) - Paus R. Principles of Hair Cycle Control.The journal of dermatology. Japanese dermatological association.Wiley online library. Vol : 25, n° 12. 1998.P : 793-802.
- 104) -Paus R, Arck P, Tiede S. Neuro-endocrinology of epithelial hair follicle stem cells. *Mol Cell Endocrinol.*;vol : 288.n° 1-2. 2008. P :38-51.
- 105) - Perret, D. Le caractère principal du suc gastrique qui aide à la digestion. Genève, Section de chimie et de biochimie.Université Genève, Suisse. -Ojanperä I et Vuori E. Part6: toxicology: suspicion of poisoning. In: Madea B, Hand book of forensic medicine, 2018, Juillet 24
- 106) -Pélissier-Alicot. AL. La redistribution post-mortem : état des lieux en 2016. *Toxicologie analytique et clinique*. France : EL Sevier Masson.-101. 2016. p. 7.Disponible sur : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352007815002644>

- 107) - Pélissier-Alicot. A-L, Gaulier. J-M, Champsaur.P, Marquet.P. Mécanisme de la redistribution post-mortem des xénobiotiques: le point sur l'état actuel des connaissances. Revue du livre: Annales de toxicologie analytique. vol 13, n° 1. 2001. p. 1-17.
- 108) -Pépin G, Chèze M et coll. Soumission chimique. In : Kintz P. traité de toxicologie médico- judiciaire. Paris : El Sevier Masson, 2012. P : 569, 570- 578,579- 594.
- 109) -PépinG, Deveaux Met coll.Les prélèvements d'autopsie nécessaire à la bonne exécution des expertises toxicologiques. 1998.
- 110) -Pineau A, Guillard O et coll. Techniques d'analyses des oligoéléments chez l'homme. Société francophone d'études et de recherches sur les éléments trace essentiels. Paris: Lavoisier éditeur tec et doc / Em inter. 1 vol. (XXI-239 p.) 2001.
- 111) -Povpov, T. A. Human exhaled breath analysis. Ann Allergy Asthma Immunol. Annals of --Allergy, Asthma & Immunology. France : El Sevier Vol 106, Issue 6, 2011, Pages 451-456.
- 112) -Prota G.Melanins and Melanogenesis ; published by Academic Press, San Diego, CA; ISBN 0-12-565970-9. 1992.
- 113) -Prota G. Melanins, melanogenesis and melanocytes: looking at their functional significance from the chemist's viewpoint. Pigment Cell Res.13:283-93. 2000.
- 114) - Randall VA et Botchkareva NV. The biology of hair growth. In: Ahluwalia GS, editor. Cosmetic application of laser and light-based system. Norwich, NY: William Andrew Inc. 2009. p. 3-35.
- 115) -Randall VA, Ebling FJ. Seasonal changes in human hair growth. British journal of dermatology. Vol : 124, n° 2. 1991. P : 146-151.
- 116) - Rang HP, Ritter JM et coll. Rang and Dale s' pharmacology: absorption and distribution of drugs. Toronto: El sevier &Churchill Livingstone.. 8 éme edition.2016. P: 108 - 112).
- 117) - Ricordel.Ivan.. Analyse des cheveux et des poils dans les enquêtes criminelles.2011.
- 118) - Riffi M, Okacha A, Rania Abtroun et coll. Dosage du chrome capillaire et urinaire par GF-AAS chez les ouvriers d'une tannerie. Intérêt des matrices biologiques. Société Française de Toxicologie Analytique. Paris : Elsevier Masson SAS. Volume 26, n° 3.133-138.2014.P: 135,136 -138.
- 119) - Riffi. Mohammed, Okacha Abdelmalek. Les matrices biologiques alternatives en toxicologie: Dosage du chrome capillaire et urinaire par SAA- électro thermique. Mémoire de diplôme d'étude spéciales toxicologique , Département de pharmacie, Université d'Alger, Algérie.2013.P. 18-28
- 120) - Rivera MA, Aufderheide AC et coll. Antiquity of coca-leaf chewing in the south central Andes: A 3,000 year archaeological record of coca-leaf chewing from northern Chile. Journal of Psychoactive Drugs. Vol : 37. n° 4. 2005.P : 558.
- 121) - Rivier L. Is there a place for hair analysis in doping controls? Forensic Science International. Elsevier Science Ireland. Vol: 107. 2000. P : 309-323.
- 122) - Rolland, Géraldine. Méthode de screening de xénobiotique (médicament et stupéfiant) dans les cheveux : état de l'art et étude préliminaire. thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie Limoges, faculté de Pharmacie. 15 Octobre 2010. P: 33,37
- 123) - Sabourin G. Trouble du spectre de l'alcoolisation fœtale. Vol : 14. n° 2. 2017.

- 124) - Samyn Nele, Areschka. Vincent, Kintz. Pascal. Place de la salive et des cheveux dans le dépistage d'un usage des stupifiants en milieu professionnelle . *Annales de toxicologie analytique* .VOL 16.N°1 ,2002. P:36.
- 125) -*Santé*. 2019, Juillet 28. Récupéré sur maxisciences:
https://www.maxisciences.com/bile/bile-definition-et-composition-de-quoi-s-agit-il_art37322.html
- 126) -Shen M, Xiang P et coll. Detection of antidepressant and antipsychotic drugs in human hair. *Forensic Sci Int.El sevier science ireland*. Vol : 126, n° 2. 2002. P: 153-161.
- 127) -Shummer C. évaluation de l'intérêt de l'échantillonnage passif d'air et des analyses de cheveux dans le bio monitoring de l'exposition humaine aux hydrocarbures aromatiques polycycliques et aux pesticides. Thèse de doctorat en chimie. L'université de Strasbourg. 2010
- 128) -Slominski A, Wortsman J et coll. Hair follicle pigmentation. *JournalInvest Dermatol* .n°124:13-21.2005.
- 129) Société canadienne du cancer.2020. <https://www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/diagnosis-and-treatment/tests-and-procedures/urinalysis/?region=qc>
- 130)
- 131) - Staub C, Augsburg M. La toxicologie forensique, une discipline scientifique en plein essor. *Revue Médicale Suisse*. 2008. P: 606.
- 132) - Staub.C et Augsburg.M. Opiacés. de P. Kintz. *Traité de toxicologie médicojudiciaire*. Elsevier Masson. 2012. p.397.
- 133) - Stephen W. P, MD, MPH, MS OPQIC.The Opioid Epidemic and Neonatal Abstinence Syndrome.Vanderbilt university. Medical center. 2017.
- 134) - Thadikaran. L, Crettaz.C et coll. Analyse protéomique du liquide amniotique . *Immunoanalyse et biologie spécialisée*. vol 22: 359-365. 2007. P:360.
- 135) -Tramoni.G, Boisson.C, Gamerre.L et coll. Embolie de liquide amniotique: mise au point . *Annales Francaises d'anesthésie et de Reanimation* vol 25. n°6. 2006. p. 600
- 136) -UHL. M et SCHEUFLER F. Effets de la couleur des cheveux sur l'incorporation de drogues dans les cheveux humains. *Annales de Toxicologie Analytique,Germany*, vol : 17, n° 4.2005.
- 137) -Verstraet A G. Fenêtre de détection des xénobiotiques dans le sang, les urines la salive et les cheveux. *Annales de toxicologie analytique*, vol 14.n°4 (390-394).2001. p : 391 à 393.
- 138) -Verstraete A, Peat M. Work place drug testing. In: Negrusz A and Cooper GAA. *Clarck's analytical forensic toxicology*. UK: London: PhP: pharmaceutical press, 2 ème edition. 2013. P: 131,132.
- 139) - Vogliardi S, Tucci M et coll.Sample preparation methods for determination of drugs of abuse in hair samples: A review. *Analytica Chimica Acta*. Elsevierbv. vol: 857. 2015. P : 1-27.
- 140) - Wille S M R, Di Fazio V, Samyn N. La salive dans les investigations toxicologiques : considérationspratiques et analytiques. In : Kintz P. *traité de toxicologie médicojudiciaire*. Paris : El Sevier Masson, 2012. P : 222, 223, 224.

- 141) - Willey Blackwell and sons. 2014. P: 857-858. Disponible sur :
<https://www.pdfdrive.com/handbook-of-forensic-medicine-e175924330.html>
- 142) - Wolff. K, Agombar. R et coll. Expert panel review of alternative biological matrices for use as an evidential sample for drug driving.2017. P: 73-76, 118,119, 134, (199).
- 143) - Wolfram. L. J. Human hair: A unique physicochemical composite.Journal of the American Academy of Dermatology. Elsevier. vol: 48, n° 6. 2003. P: 106-114.
- 144) -Wosickaa H et Calb K .Targeting to the hair follicles: Current status and potential. Journal of Dermatological Science. Elsevier. vol: 57, n° 2.2010. P. 83-89.
- 145) - Xie Z. Electronic nose for analysis of volatile organic compound in air and exhaled breath. Theses and Dissertations. A Dissertation. Submitted to the Faculty of the J. B. Speed School of Engineering. University of Louisville. In Partial Fulfillment of the Requirements. For the Degree of Doctor of Philosophy in Chemical Engineering. Louisville, KY. 2017.
- 146) - Yegles M, Marson Y, Wennig R. Influence of bleaching on stability of benzodiazepines in hair. Forensic Science International. Elsevier Science Ireland. vol: 107. 2000.P: 87-92.
- 147) -Zahlsen K and Nilsen O G. Nicotine in Hair of Smokers and Non-Smokers: Sampling Procedure and Gas Chromatographic/Mass Spectrometric Analysis. Pliarmacology&Toxicology. Danmark. ISSN 0901-9928.1994.75, 143-149.
- 148) moleculardevices.com
- 149) <http://lenoni.e-monsite.com/pages/notre-laboratoire/dosage-par-spectrophotometrie-d-absorption/la-spectrometrie-d-absorption-atomique.html>
- 150) <https://www.mblbio.com/bio/g/support/method/elisa.html>
- 151) https://biologie.chu-grenoble.fr/spectrometrie-de-masse?fbclid=IwAR2q7c152hphHJDvH_d7nMzu-OnYx5YrEIwZa0AyRHMxoBu5ol2A75g97QM

Résumé :

Ces dernières années, l'utilisation de matrices alternatives comme les cheveux pour la recherche et le dosage des xénobiotiques a connu un flux croissant. L'analyse des cheveux complète utilement les analyses plus classiques de sang et d'urine en élargissant la fenêtre de détection d'éventuelles expositions aux xénobiotiques. La durée de détection d'un xénobiotique dans les cheveux s'exprime en plusieurs mois voire plusieurs années ce qui a prouvé l'intérêt majeur des cheveux comme marqueurs d'exposition aigue ou chronique aux xénobiotiques. En outre et grâce au développement de nouvelles méthodes d'analyse comme la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse, le champ d'application du dépistage par les cheveux a suffisamment élargi vers le suivi des sujets alcoolodépendants, l'empoisonnement chronique, le dopage, la soumission chimique ainsi que son intérêt en santé maternelle, néonatale et infantile. Tous ces points et d'autres, sont expliqués dans ce modeste travail, ainsi que la présentation de quelques cas de dépistage de certaines molécules, dans les cheveux, par des méthodes d'analyse différentes.

Mots clés : matrices alternatives, cheveux, analyse, xénobiotiques.

ملخص:

في السنوات الأخيرة، شهد استخدام المصفوفات البديلة مثل الشعر للبحث والمعايرة للأجسام الغريبة إهتماماً متزايداً. يُعدُّ تحليل الشعر إضافة مُفيدة لتحليلات الدم والبول التقليدية من خلال توسيع النافذة للكشف عن التعرض المُحتمل للأجسام الغريبة. يتمّ التعبير عن مدة اكتشاف كائن حيوي غريب في الشعر في عدة أشهر أو حتى عدة سنوات، مما يثبت الاهتمام الكبير بالشعر كعلامات للتعرض الحاد أو المزمن للأجسام الغريبة. بالإضافة إلى ذلك، وبفضل تطوير طرق تحليلية جديدة مثل كروماتوغرافيا الغاز وقياس الطيف الكتلي، تم توسيع نطاق فحص الشعر بشكل كافٍ ليشمل مراقبة الأشخاص المدمنين على الكحول والتسمم المزمن، المنشطات، وتقديم المواد الكيميائية وكذلك صلتها بصحة الأم والوليد والطفل. كل هذه النقاط وغيرها موضحة في هذا العمل المتواضع، مع عرض بعض حالات الكشف عن جزيئات معينة، في الشعر، بطرق تحليل مختلفة.

الكلمات المفتاحية: المصفوفات البديلة، الشعر، التحليل، الأجسام الغريبة.

Abstract:

In recent years, the use of alternative matrices like hair for the research and assay of xenobiotics has seen an increasing flow. Hair analysis is a useful addition to more traditional blood and urine analyzes by widening the window for detecting possible xenobiotic exposure. The duration of detection of a xenobiotic in the hair is expressed in several months or even several years, which has proven the major interest of hair as markers of acute or chronic exposure to xenobiotics. In addition, and thanks to the development of new analytical methods such as gas chromatography and mass spectrometry, the scope of hair screening has sufficiently broadened towards the monitoring of alcohol-dependent subjects, chronic poisoning, doping, chemical submission as well as its relevance to maternal, newborn and child health. All these points and others, are explained in this modest work, as well as the presentation of some cases of screening of certain molecules, in the hair, by different analysis methods.

Keywords: alternative matrices, hair, analysis, xenobiotics.