

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
People's Democratic Republic of Algeria
The Minister of Higher Education and Scientific Research
ⵜⴰⴳⴷⴰⵢⵜ ⵜⴰⵎⴳⴷⴰⵢⵜ ⵜⴰⵏⵔⴰⵢⵜ ⵜⴰⵎⴳⴷⴰⵢⵜ ⵜⴰⵏⵔⴰⵢⵜ ⵜⴰⵎⴳⴷⴰⵢⵜ

ABOU BEKR BELKAID UNIVERSITY
TLEMCEM
FACULTY OF MEDICINE- Dr. B. BEN-
ZERDJEB
PHARMACY DEPARTMENT



جامعة أبو بكر بلقايد - تلمسان
كلية الطب - د. ب. بن زرجب
قسم الصيدلة

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTEUR EN PHARMACIE

THÈME :

**Installation de l'unité de Toxicologie medico-légale au niveau du service de
toxicologie CHU Tlemcen**

Présenté par :

**SEMGHOUNI Hadjira
OUMOHAND Sonia**

Soutenu le

10 juillet 2023

Jury

Président :

Pr LARIBI Souhila

Professeur Universitaire en Médecine légale

Membres :

Pr ABOUREJAL Nesrine

Maitre de Conférence classe A en toxicologie

Dr BOUABDALLAH Wassila

Maitre assistante hospitalo-universitaire en psychiatrie

Dr DJELTI Abdelouahhab

Maitre-assistant hospitalo-universitaire en médecine nucléaire

Encadrant :

Dr MILOUD ABID Dalila

Maitre assistante hospitalo-universitaire en toxicologie

Année universitaire : 2022-2023



*À Allah le tout puissant,
Seigneur de l'univers*

*Louange à « ALLAH » C'est grâce à vous
que je suis là aujourd'hui
Vous m'avez guidé à chaque instant
pour la réalisation de ce travail.*

Louanges et remerciements pour votre clémence et miséricorde.





Remerciement

*Nous tenons à exprimer nos remerciements les plus vifs à notre encadreur **Dr Miloud Abid Dalila**, nous avons eu le privilège de travailler parmi votre équipe et d'apprécier vos qualités et vos valeurs. Votre sérieux, votre compétence et votre sens du devoir nous ont énormément marqués. Veuillez trouver ici l'expression de notre respectueuse considération et notre profonde admiration pour toutes vos qualités scientifiques et humaines. Ce travail est pour nous l'occasion de vous témoigner notre profonde gratitude.*

*Nos profonds remerciements s'étendent également à **Pr Abouridjel** pour son aide, ses efforts, ses encouragements et le temps qu'il nous a consacré.*

*Nous tenons à remercier **Pr Laribi Souhila, Dr Djelti Abdelouahhab et Dr Bouabdellah Wassila** Pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre étude et pour avoir fait l'honneur d'accepter de faire partie de notre jury et d'examiner notre travail.*

*Nous remercions enfin toute l'équipe du service de toxicologie du **CHU de TLEMCEM** et particulièrement **Biologiste Bougherara Nawal** pour l'aide offerte et l'agréable ambiance de travail.*





Dédicace

*C'est avec la plus grande émotion et la plus grande joie que je dédie ce modeste travail
A mes chers parents, source de ma motivation, je voudrais vous remercier pour votre amour
et votre générosité. Ce modeste travail est le fruit des sacrifices que vous avez déployés pour
mon instruction, ma réussite et mon bien-être, aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour
et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Puisse Dieu vous accorder santé, une longue et
heureuse vie.*

*A ma sœur **Khadidja** et mon frère **Abdallah**, pour leurs appuis et leurs encouragements,
aucune expression ne pourrait résumer ma reconnaissance et mon amour à votre égard*

Que dieu vous protège et vous offre un avenir plein de succès, bonheur du monde.

*A mes oncles **Ibrahim, Mohammed, Mustapha, Abdallah et Houari**, mes cousines surtout
Arbia et mes cousins Merci d'être toujours là pour moi.*

*A mon grand-père **SIDI** et ma grand- mère **JJI** pour leurs prières et leur soutien sans faille.*

*J'en suis extrêmement reconnaissante .Votre présence dans ma vie m'a toujours apporté
joie et réconfort . Rien ne peut remplacer la chaleur d'une famille
qui anime et pimente toujours l'âme . Rien ne peut remplacer notre
union si précieuse . La famille c'est là où commence un amour sans
fin .Je suis fière de vous avoir .*

*Veillez trouver à travers ce manuscrit mes sentiments de gratitude
les plus profonds .*

*A mes chères amies **Nassira ,Hanna, chaima et ilyess** je tiens à vous dire en ce jour-là à quel
point votre présence et votre soutien compte pour moi . L'amitié est un lien si fort qui nous
accompagne lors des voyages de la vie , ce lien solide que ni le temps ni l'espace ne peut
changer . Nos rires, nos moments de joies , les moments durs qu'on est arrivé à dépasser
ensemble me marqueront pour toujours . À vous ces êtres qui brillent dans ma vie .Nos
partages resteront aussi unique que vous .*

***Toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation
de ce travail***

*Je vous offre ce manuscrit en témoignage de mes sentiments les plus
sincère*

Hadjira





Dédicace

En premier lieu je remercie Allah le tout puissant de m'avoir donné la volonté, la santé et le courage pour réaliser ce mémoire.

Du profond de mon cœur je dédie ce modeste travail à :

***Mes très chers parents**, source de ma motivation, qui ont toujours cru en moi, qui m'ont poussé à donner le meilleur de moi-même, qui m'ont soutenu et encouragé durant toutes mes années d'étude. Aucune dédicace et aucune expression ne pourrait traduire tout l'amour et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Je vous remercie éternellement pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.*

***Mes chers et adorables frères**, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.*

***Ma chère Grand-mère et mon cher Grand-père**, pour leurs prières et leur soutien, merci d'avoir cru en moi.*

***La mémoire de mes grands parents maternel**, que vos âmes reposent en paix.*

Grande mère, j'aurai tant souhaité et aimé de te voir à mes coté en ce moment de joie et de réussite, tu es toujours présente dans mon cœur et mes pensées. je t'aime tellement.

***Mon mari**, je voulais juste te dire merci. Merci pour ton soutien et pour l'encouragement et l'aide que tu m'as toujours accordé et pour tout ce que tu fais pour moi. Ton existence est si précieuse, que Dieu te préserve.*

***Ma belle mère, ma belle sœur et ces petits enfants RAYAN et LYNA**, que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.*

Tous les membres de ma famille.

Mes amies et précisément Hadjer

Tous ceux qui m'ont apporté aide et assistance tout au long de mon cursus, et à mon binôme Hadjira.

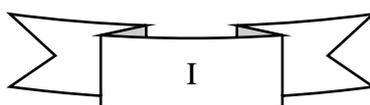
*En fin, à **moi** d'avoir eu le courage de commencer et d'achever ce modeste travail et d'avoir vécu toutes les difficultés.*

Sonia

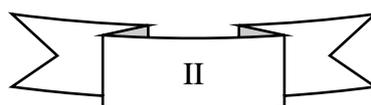


Table des matières

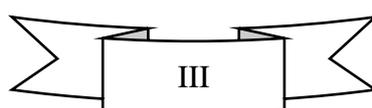
Table des matières	I
Listes des abréviations	V
Liste des tableaux	VII
Liste des figures	VIII
INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
CHAPITRE I INTRODUCTION À LA TOXICOLOGIE MÉDICOLÉGALE	3
I. 1. Historique de la toxicologie médico-légale	4
I.2. Généralités	6
I.2.1. Toxicologie médico-légale :	6
I.2.2. Autopsie médico-légale :	6
I.2.3. Principales missions :	7
I.2.4. Intérêt de la toxicologie médico-légale :	7
I.3. Expertise toxicologique	7
I.3.1. Collaboration clinico-biologique :	7
I.3.2. Principaux xénobiotiques incriminés :	8
I.3.3. Particularité de la cinétique d'un xénobiotique :	8
I.3.3.1. Absorption/résorption des xénobiotiques :	9
I.3.3.2. Distribution des xénobiotiques :	9
I.3.3.3. Métabolisme des xénobiotiques :	10
I.3.3.4. Élimination des xénobiotiques :	10
CHAPITRE II CIRCONSTANCES DE L'EXPERTISE TOXICOLOGIQUE	12
II.1. Drogues et conduite automobile :.....	13
II.1.1. Les accidents de la route :	13
II.1.2. Drogues impliquées :	13
II.1.2.1. L'alcool:	13
II.1.2.2. Toxicocinétique de l'alcool.....	13
II.1.2.3. Effets aigus de l'alcool	15
II.1.2.4. Milieux d'analyse et interprétation	15
II.1.2.5. Méthodes de dosage de l'alcoolémie	16
II.1.2.6. Seuil légal de l'alcoolémie	19
II.2. Soumission chimique :	20
II.2.1 Définition :	20



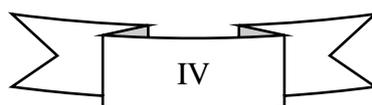
II.2.2. Prévalence :	20
II.2.3. Effets recherchés par l'agresseur :	20
II.2.4. Les substances utilisées :	21
II.2.5. Les prélèvements utiles :	21
II.2.6. Analyse toxicologique :	21
II.3. Dopage :	22
II.3.1. Définition :	22
II.3.2. Substances utilisées pour le dopage :	22
II.3.3. L'autorisation d'usage à des fins thérapeutiques :	24
II.4. Abus aux drogues :	24
II.4.1. Définition :	24
II.4.2. Signes d'abus et de dépendance aux substances :	24
II.4.3. Drogues impliquées.....	25
II.4.3.1. Les stupéfiants :	25
II.5. Décès toxique :	36
II.5.1. Définition :	36
II.5.2. Toxiques en cause :	37
II.5.2.1. Les asphyxiants :	37
a. Monoxyde de carbone (CO) :	37
b. Cyanure :	38
c. Nitrates et nitrites :	38
II.5.2.2. Les Digitaliques :	39
II.5.2.3. Les psychotropes :	40
II.5.2.4. Métaux et métalloïdes :	43
CHAPITRE III ANALYSE TOXICOLOGIQUE	44
III.1. Phase pré-analytique :	45
III.1.1. Le choix de l'échantillon	45
III.1.1.1. Prélèvements obligatoires :	45
III.1.1.2. Prélèvements Facultatifs :	49
III.1.2. Conditionnement.....	52
III.1.3. Conservation et stockage.....	53
III.1.4. Prétraitement de l'échantillon	54
III.1.4.1. L'hydrolyse :	55
III.1.4.2. Extraction liquide-liquide :	55
III.1.4.3. Extraction en phase solide :	56



III.2. Phase analytique :	56
III.2.1. Méthodes d'orientation	56
III.2.1.1. Réactions colorées d'orientation:	56
III.2.1.2. Tests immunochimiques:	56
III.2.2. Méthodes de confirmation	58
III.2.2.1. Chromatographie sur couche mince (CCM) :	58
III.2.2.2. Chromatographie liquide haute performance (HPLC) :	58
III.2.2.3. Chromatographie en phase gazeuse (CPG) :	59
III.2.2.4. Électrophorèse capillaire (EC) :	60
III.2.2.5. Spectrométrie d'absorption atomique (SAA) :	61
III.2.2.6. Spectrométrie-UV :	61
PARTIE PRATIQUE : INSTALLATION DE L'UNITÉ DE TOXICOLOGIE MÉDICOLÉGALE . 62	
I. Présentation du travail	63
I.1. Type, Lieu et période de l'étude :	63
I.2. Objectifs de l'étude :	63
I.2.1. Objectif principal :	63
I.2.2. Objectifs secondaires :	63
I.3. But de l'étude :	63
II. Description du service de toxicologie	64
II.1. Création du service de toxicologie CHU de Tlemcen :	64
II.1.1. Unité de toxicologie d'urgence :	64
II.1.2. Unité de toxicologie professionnelle :	64
II.1.3. Unité de toxicologie médico -légale :	64
III. Établissement de l'état de Besoin de l'unité :	65
III.1. En Matériels et équipements	65
III.2. En Réactifs :	69
III.2.1. La méthode de Cordebard:	69
III.2.2. La méthode de Wolff :	69
III.2.3. Recherche des benzodiazépines :	69
III.2.4. Identification des phénothiazines et imipramines par réactions colorée	70
III.2.5. Caractérisation de l'Amitriptyline par une réaction colorée :	70
III.2.6. Recherche Des Salicylés Par Le Réactif De Trinder :	70
IV. Précaution lors de la manipulation :	70
IV.1. Précautions À Prendre Impérativement Lors De La Manipulation Des Solvants :	70
IV.2. Stockage Des Solvants :	73



V. Mise au point des techniques analytiques	74
V. 1. Etape pré -analytiques.....	74
V.1.1. Les différentes fiches d'analyses :	74
V.1.2. Choix du milieu biologiques post mortem et sur le vivant :	74
V.1.2.1. Prélèvements effectués lors de l'autopsie :	75
V.1.2.2. Prélèvements effectué chez le vivant :	76
V.1.3. Les conditions de conservation et de stockage des prélèvements :	76
V.1.3.1. Chez le cadavre :	76
V.1.3.2. Chez le vivant :	78
V.1.4. Prétraitement :	78
V.1.4.1 Préparation des échantillons :	78
V.2. Etape analytique :	79
V.2.1. Dosage de l'alcool éthylique dans le sang par méthode de cordebard :	79
V.2.2. Dosage de CO par méthode de WOLFF :	81
V.2.3. Recherche des salicylés par le réactif de TRINDER :	83
V.2.4. Identification des barbituriques par Chromatographie sur couche mince:	84
V.2.5. Recherche des benzodiazépines :	84
V.2.6. Identification des phénothiazines et imipramines par réactions colorimétriques :	85
V.2.7. Caractérisation de l'Amitriptyline par une réaction colorée :	86
V.2.8. Caractérisation des alcaloïdes :	86
V.3.Phase post-analytique :	90
V.3.1. Résultats et interprétation :	90
DISCUSSION	95
CONCLUSION.....	100
BIBLIOGRAPHIE.....	102
Annexes.....	117
GLOSSAIRE	153



Listes des abréviations

ADME : absorption, distribution, métabolisme, élimination

ADMET : absorption, distribution, métabolisme, élimination, toxicité

ADH : alcool déshydrogénase

FAEE : formation d'esters éthyliques d'acide gras

SC : soumission chimique

GHB : acide gamma hydroxy butyrique

SFTA : la société française de toxicologie analytique

GC/FID : chromatographie gazeuse détecteur à ionisation de flamme

HS/GC/MS : chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse avec introduction en espace de tête

GC/MS : chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse

LC/DAD : chromatographie liquide à détecteur à barrette de diode

LC/MS : chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse

EPO : érythropoïétine

CERA : activateur continu du récepteur de l'EPO

hGH : hormone de croissance

THC : transtétrahydrocannabinol

11-OH-THC : 11-hydroxy-tétrahydrocannabinol

THC-COOH : le 11-nor-9 carboxy Δ 9 tétrahydrocannabinol

EDDP : 2-éthylidène-1,5-diméthyl-3,3- diphenyl pyrrolidine

EME : méthylester

MDMA : méthyl éthylène dioxyde méthyl amphetamine

LSD : le diéthylamide de l'acide lysergique

Hb : hémoglobine

MetHb : méthémoglobine

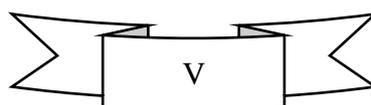
CO : monoxyde de carbone

HbCO : carboxy hémoglobine

IEC : inhibiteur de l'enzyme de conversion

AC : antagoniste calcique

BZD : benzodiazépine



ADT : antidépresseur

IMAO : inhibiteur de la monoamine oxydase

ELISA: enzyme linked immunosorbent assay

EMIT: enzyme multiplied immunoassay technique

CCM : chromatographie sur couche mince

HPLC : chromatographie liquide haute performance

CPG : chromatographie en phase gazeuse

EC : électrophorèse capillaire

SAA : spectrométrie d'absorption atomique

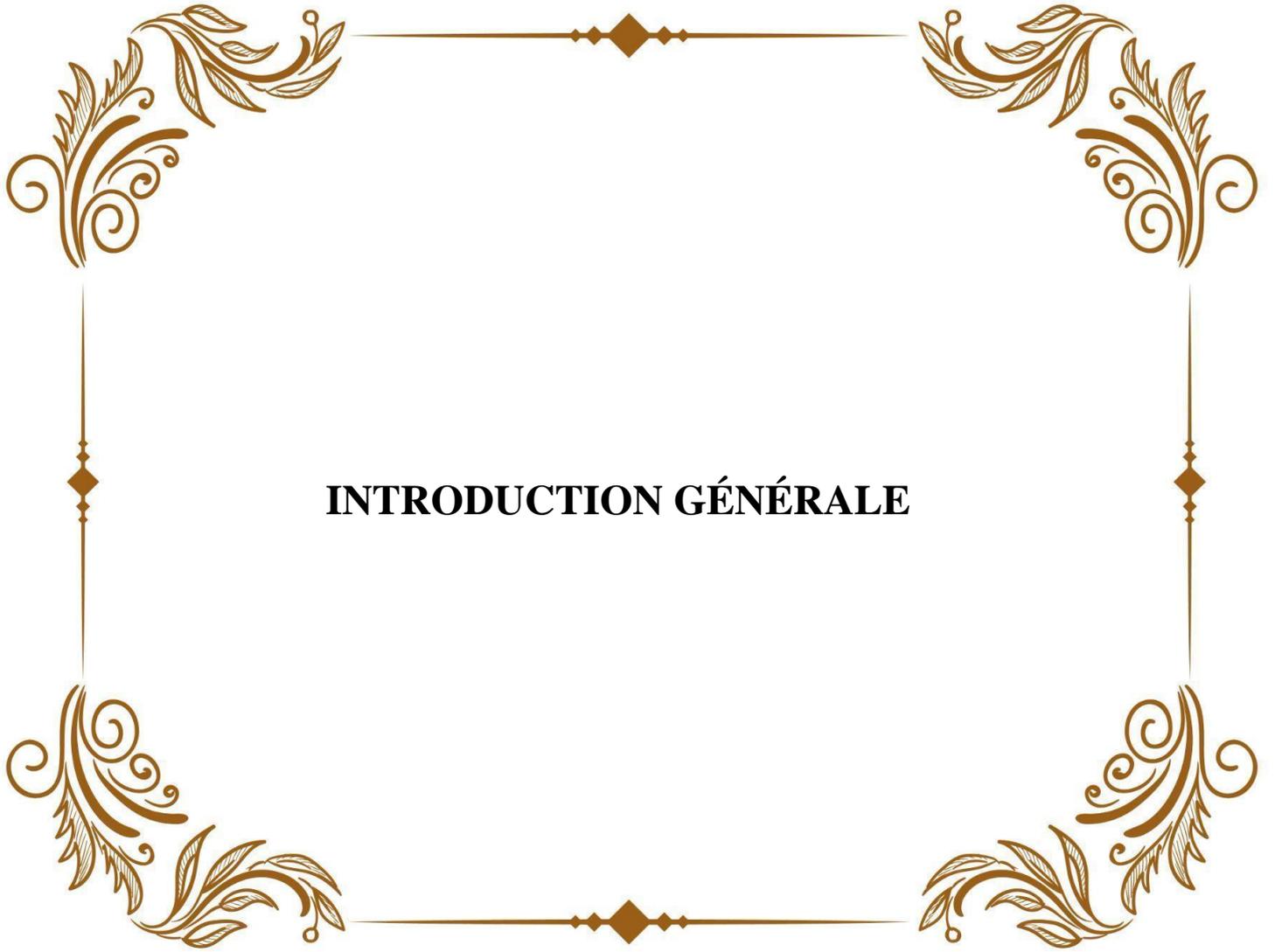
AMA : agence mondiale anti dopage

Liste des tableaux

Tableau I: classification des xénobiotiques incriminés.....	8
Tableau II: Limites légale de l'alcoolémie en g/l dans les êtas membres de l'UE	19
Tableau III: Limites légales de l'alcoolémie en g/l.....	20
Tableau IV: prélèvements autopsique.....	54
Tableau V: différents réactions colorimétriques utilisés en toxicologie médico-légale	56
Tableau VI: différents types de détecteurs.....	60
Tableau VII: dépistage des drogues urinaires.....	89
Tableau VIII: dépistages des médicaments	90

Liste des figures

Figure 1: Ebers papyrus.....	4
Figure 2 : Reine catherine de médicis et Mathieu Orfila	Error! Bookmark not defined.
Figure 3: Représentation schématique du devenir d'un médicament dans l'organisme.	9
Figure 4: Dispositif alcotest	17
Figure 5: Pour prélever le sang cardiaque le sac péricardique est ouvert et retiré (A-C), l'échantillon est prélevé à l'aide d'une seringue au niveau de la chambre droite	45
Figure 6: prélèvement sanguin à partir de la veine fémorale.	46
Figure 7: prélèvement urinaire post-mortem externe(A) et interne (B)	46
Figure 8: aspiration de l'humeur vitrée à l'aide d'une seringue de 5 ml à 10ml.	47
Figure 10: prélèvement des cheveux (A) et recueil sur une feuille d'aluminium(B)	47
Figure 11: prélèvement de l'estomac (A-B-C-D)avec recueil du contenu gastrique (E).....	48
Figure 12: Echantillon pulmonaire prélevé à partir de l'apex du poumon droit.....	48
Figure 13: prélèvement hépatique à partir du lobe droit.	50
Figure 14: prélèvement cardiaque à partir du ventricule gauche	50
Figure 15: Etapes de prélèvement de la moelle osseuse.	51
Figure 16: différents contenants peuvent être utilisés	53
Figure 17: schéma d'une chromatographie sur couche mince	58
Figure 18: principe de fonctionnement HPLC.[160].....	59
Figure 19: schéma simplifié de l'appareillage de la CPG [163].	60
Figure 20: schéma illustrant le fonctionnement de l'EC[178].	61
Figure 21: des pictogrammes représente les précautions à prendre lors de la manipulation ...	72
Figure 22: protocole de l'extraction liquide-liquide	79
Figure 23: montage de distillation.....	81
Figure 24: a: coloration du surnagent d'un témoin négative	82
Figure 25: analyseur Viva-ProE	88
Figure 26 : principe d'analyse de l'analyseur VivaE.....	88
Figure 27: réactifs utilisés	89



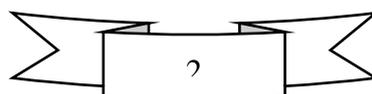
INTRODUCTION GÉNÉRALE

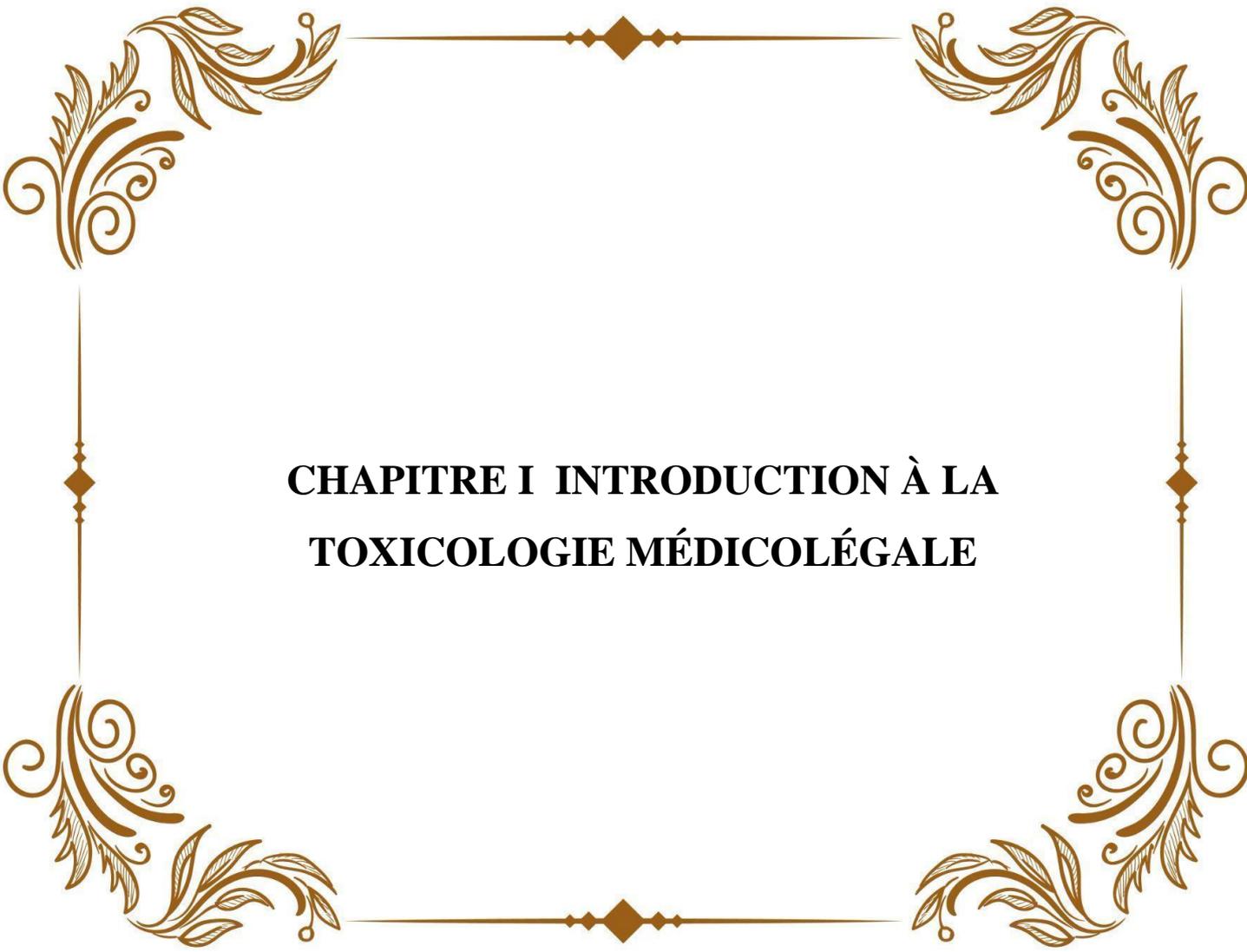
La toxicologie forensique, autrement appelée médico-légale ou médico-judiciaire, est une branche de la science médico-légale qui étudie les effets des substances toxiques sur le corps humain. Elle est sollicitée pour déterminer si une personne a été exposée à des substances toxiques et si cela a contribué à sa mort. Elle est également appelée dans les enquêtes criminelles pour déterminer si un sujet a été empoisonné ou était sous l'influence de drogues ou d'alcool au moment d'accident de voiture ou d'autres incidents [1,2]

Afin de répondre à une question dans le domaine du droit, les toxicologues légistes travaillent en collaboration avec des enquêteurs, des policiers, des infirmiers, un médecin légiste, une équipe de scientifiques et d'autres membres du personnel chargés de l'application de la loi. Ils utilisent une variété de techniques pour analyser les échantillons biologiques.

La toxicologie forensique est une discipline importante dans la résolution de crime et de décès suspects et bien qu'elle présente certaines limites, elle continue de se développer avec l'avancement des technologies d'analyse et est de plus en plus utilisée pour résoudre des cas de fraude alimentaire et de contamination environnementale.

L'intérêt de ce travail est en premier lieu d'installer l'unité de toxicologie médico-légale au niveau du service de toxicologie au sein du CHU Tlemcen. En second lieu, détailler les différentes circonstances faisant appel à la toxicologie médico-légale afin d'appuyer son importance dans plusieurs enquêtes judiciaires notamment celles où les signes cliniques de la victime et l'autopsie du défunt ne sont pas concluants et citer les différentes substances impliquées dans le cadre de ces circonstances ainsi que les méthodes permettant de les identifier et quantifier. Enfin, nous allons décrire la méthodologie d'interprétation des résultats analytiques.





**CHAPITRE I INTRODUCTION À LA
TOXICOLOGIE MÉDICOLÉGALE**

I. 1. Historique de la toxicologie médicolégale

Depuis des siècles la toxicologie est reconnue comme la science étudiant les poisons, et selon Paracelse dans les années 1500 : « Tout est poison, rien n'est poison, seule la dose fait le poison » [1]. Elle est considérée comme la discipline étudiant les effets des substances toxiques sur l'organisme, leurs mécanismes d'action et leurs conséquences sur les fonctions physiologiques, par ailleurs elle permet d'établir l'étiologie de certaines pathologies à travers le volet analytique de la discipline. La toxicologie se divise en plusieurs spécialités : toxicologie clinique, analytique et médicolégale [2].

L'histoire de cette discipline remonte beaucoup plus loin. Depuis la nuit des temps l'homme se servait des vertus de la nature pour accomplir ses désirs. Les peuples préhistoriques avec la découverte du poison dans les 50 000 avant notre ère l'utilisait pour chasser les animaux, cela ne révèle peut être pas de la toxicologie forensique, mais on peut voir que depuis l'antiquité l'Homme utilisait du poison pour tuer. Ceci est illustré par plusieurs histoires d'empoisonnements criminels [3].

L'une des plus anciennes sources littéraires axées sur la toxicologie était le papyrus Ebers (1550 avant JC) (Figure 1). Ce papyrus n'était qu'une copie d'un manuscrit beaucoup plus ancien. Les égyptologues supposaient que l'auteur de l'original était le médecin égyptien Imhotep au début du 3ème millénaire avant J.C. La pharmacopée la plus ancienne des anciens Égyptiens a été découverte en 1872 et comprenait plus de 900 prescriptions médicales. Dans ce rouleau de 20,5 m de long, nous pourrions trouver des passages sur l'opium, le trioxyde d'arsenic, l'aconitine, cyanoglucosides ou un alcaloïde isolé de la fève de Calabar *Physostigma venenosum* (Fabaceae) [4].



Figure 1: Ebers Papyrus [5].

Probablement l'histoire la plus connue de l'époque hellénistique est celle de l'exécution du philosophe grec Socrate par l'extrait de ciguë ; *Conium Maculatum* (Apiacée) contenant de la coniine. Sa mort est décrite en détails dans le tract de Platon [6]. Pendant cette époque, la mort d'Alexandre le grand (323-356 av.J.C) était soupçonnée par un empoisonnement

réalisé par son épouse Roxana qui avait utilisé la strychnine. Selon les historiens de cette époque le meurtre avait pour cause sa jalousie envers d'autres femmes [7].

Au Moyen Âge, l'Italie et plus tard la France ont été considérés comme les pays les plus puissants en ce qui concerne les empoisonnements. La reine de France Catherine de Médicis (1519-1589) (Figure 2), surnommée Reine-Empoisonneuse, était connue pour mener diverses expériences sur des personnes pauvres et malades à qui elle avait donné différents mélanges toxiques. Pendant les expériences, Catherine a soigneusement enregistré la vitesse de la réponse toxique (apparition de l'effet toxique), l'efficacité du mélange toxique, la force de l'effet toxique dans diverses parties du corps (spécificité de l'organe, site d'action) et la manifestation clinique de l'intoxication. Ainsi, malgré la réputation peu reluisante de la reine, elle pourrait être considérée comme la première toxicologue expérimentale de l'histoire [8].

Mathieu Joseph Bonaventure Orfila (1787-1853), est un pionnier de la toxicologie médico- légale, il fut le premier grand représentant de la médecine légale au XIXe siècle. Orfila travailla à faire de l'analyse chimique une partie courante de la médecine légale, et fit des études sur l'asphyxie, la décomposition des corps et l'exhumation. Son premier ouvrage majeur, « Traité des poisons tiré des règnes minéral, végétal et animal ou Toxicologie générale » (Figure. 2) est publié en 1814. En 1818, il publie « Secours à donner aux personnes empoisonnées ou asphyxiées suivis des moyens propres à reconnaître les poisons et les vins frelatés et à distinguer la mort réelle de la mort apparente » Au cours de sa longue carrière, Orfila a été appelé à agir comme un expert médical dans des affaires criminelles largement médiatisées, et est devenu une figure publique notable et parfois controversée [9].



Figure 2 : a : Reine catherine de médicis b : Mathieu Orfila[10].

Pendant ces temps-ci le chimiste britannique James M. Marsh (1794-1846) en 1836 met au point une méthode pour tester la présence d'arsenic dans les tissus humains. En utilisant du

zinc et de l'acide sulfurique pour créer du gaz arsine, ce test est très sensible à même de faibles niveaux d'arsenic. Le test de Marsh, comme on l'appelait, a été la première utilisation de la toxicologie dans un procès devant jury [11].

En 1850, le premier test permettant d'identifier les poisons alcaloïdes a été mis au point par le chimiste belge Jean-Servais Stas (1813-1891) qui a pu développer une méthode de détection des poisons alcaloïdes végétaux (caféine, quinine, morphine, strychnine, atropine, opium) dans les cadavres. Orfila, Marsh et Stas ont été les pionniers de la toxicologie médico-légale, leurs investigations ont permis de diminuer le nombre d'empoisonnement grâce à la possibilité de détection de poisons qui a été auparavant presque impossible [12].

I.2. Généralités

I.2.1. Toxicologie médico-légale :

De nos jours et à travers le monde, le taux de criminalité, de viols, d'abus de substances, d'accidents dus à l'alcool ou aux drogues et de décès dus aux incendies sont sources d'inquiétudes psychologiques inestimables qui ne cessent de diffuser quotidiennement des événements lourds. La toxicologie médico-légale permet d'identifier et de quantifier les substances qui ont pu modifier le comportement des individus lors d'une conduite automobile ou lors d'une soumission chimique ou qui ont causé le décès que ce soit dans un contexte d'empoisonnement ou de suicide. Elle permet d'appliquer les principes de la toxicologie combinés à ceux de la chimie analytique dans les affaires judiciaires afin de déterminer la probabilité d'une implication des substances toxiques. Ainsi, la toxicologie forensique nécessite l'utilisation des méthodes appropriées afin de caractériser les substances inconnues et leurs doses dans les différents systèmes biologiques [13,14].

I.2.2. Autopsie médico-légale :

Une autopsie médico-légale est un examen post mortem effectué pour répondre aux objectifs médico-légaux. L'exécution d'une autopsie judiciaire suit les instructions de l'autorité juridique concernée responsable de l'enquête médico-légale sur les décès soudains, inattendus, suspects, non déclarés, obscurs, inexplicables, les décès criminels, les décès industriels et les décès associés à des traitements médicaux ou chirurgicaux où la négligence médicale est alléguée ou des décès sous anesthésie. En bref, tous les décès non naturels (homicide, suicide, accident) nécessitent une enquête judiciaire, qui comprend une autopsie dans le cadre du processus de collecte de preuves [15].

I.2.3. Principales missions :

Aujourd'hui la toxicologie médico-légale est divisée en deux subdivisions :

- La toxicologie post-mortem : qui est appelée principalement dans les enquêtes sur les décès, ou lorsque l'intoxication médicamenteuse est soupçonnée comme une cause immédiate de la mort et pourtant n'est pas diagnostiquée à l'autopsie.
- Les tests médico-légaux de drogues : qui permettent de détecter la consommation des drogues chez les individus

I.2.4. Intérêt de la toxicologie médicolégale :

Lors d'une enquête, la responsabilité fondamentale des toxicologues légistes demeure d'aider le système judiciaire à décider si une substance donnée pourrait avoir un impact clinique ou toxicologique sur l'issue d'une affaire judiciaire. À cette fin, le toxicologue doit d'abord démontrer la présence et l'identité exacte de la substance chimique chez un défunt, ou une personne vivante ainsi qu'établir une relation entre l'exposition et la survenance d'un effet, d'un comportement ou d'un décès préjudiciable. Afin de répondre à une question dans le domaine du droit, le toxicologue légiste devrait travailler en collaboration avec des enquêteurs, des policiers, des infirmiers, un médecin légiste, une équipe de scientifiques et d'autres membres du personnel chargés de l'application de la loi [16].

I.3. Expertise toxicologique

I.3.1. Collaboration clinico-biologique :

La prise en charge d'une intoxication repose avant tout sur une approche clinique et biologique. L'approche clinique d'un sujet intoxiqué est basée sur la recherche d'un toxidrome, étayée par l'anamnèse, ces symptômes sont la conséquence directe de l'action pharmacodynamique du toxique. Un toxidrome représente le tableau typique d'une intoxication, il n'est en aucun cas spécifique. L'analyse toxicologique avec le développement de méthodes analytiques de plus en plus spécifiques et sensibles vient en second lieu.

Pour une meilleure prise en charge lors d'une intoxication, une collaboration étroite et continue, en amont et en aval, entre clinicien et analyste permettra de coordonner les attentes de l'équipe médicale et les solutions apportées par le biologiste, dans la limite de ses capacités matérielles, humaines, techniques et économiques.

I.3.2. Principaux xénobiotiques incriminés :

Diverses substances toxiques sont recherchées dans le cadre de l'expertise toxicologique. Elles peuvent être d'origine médicamenteuse ou non, des gaz, des produits industriels ou des molécules d'origine naturelle (Tableau I)

Tableau I: Classification des xénobiotiques incriminés

Classe	Sous classe	Exemples
Médicaments	Psychotropes	Neuroleptiques (phénothiazines, clozapines) Anxiolytiques et hypnotiques (BZD, barbituriques) Antidépresseurs (l'imipramine, sertraline)
	Anesthésiques	Anesthésiques généraux (fentanyl, kétamine) Anesthésiques locaux (lidocaïne)
	Cardiotropes	Digitaliques (digoxine)
Stupéfiants non médicamenteux	Perturbateurs	Cannabis
	Dépresseurs	Les opiacés et opioïdes Héroïne, morphine, codéine, méthadone
	Stimulants	Cocaïne, amphétamines, Ecstasy : MDMA
	Hallucinogènes	LSD
GAZ	Asphyxiants	CO et CN
Produits industriels	Solvants	Méthanol. EG. Benzène
	Agents méthémo-globinissants	Nitrates et nitrites
	Métaux et métalloïdes	Arsenic, thallium, plomb, mercure
	Pesticides	OC, OP, Pyrèthrynoïdes, Parquât, AVK
Toxiques d'origine naturelle	Plantes	Belladone, la grande ciguë, l'if, le chardon à glu
	Champignons	Amanite phalloïdes
	Animaux	Scorpion, serpents

I.3.3. Particularité de la cinétique d'un xénobiotique :

Le passage du xénobiotique entre la zone de contact et la cible va dépendre du passage de certaines barrières et de la diffusion dans certains liquides. Cela va se traduire par une connaissance de l'évolution des concentrations du toxique dans l'organisme au cours du temps, mais également des processus physiologiques impliqués aux différents temps. Il est aisé de schématiser le devenir d'un xénobiotique (figure 3) dans l'organisme en quatre étapes, résumées en quatre lettres «ADME» qui correspondent respectivement à : absorption, distribution, métabolisme, élimination [17–22].

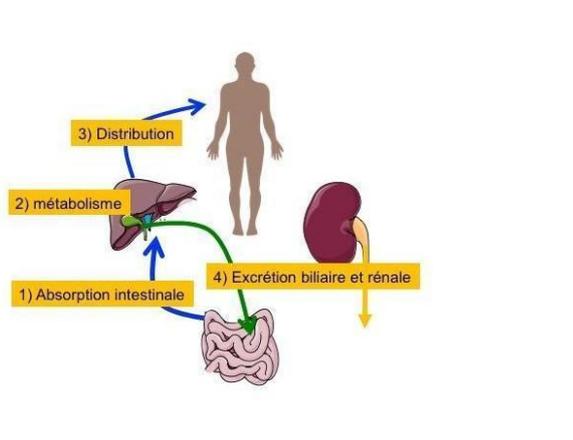


Figure 3: Représentation schématique du devenir d'un xénobiotique dans l'organisme.

I.3.3.1. Absorption/résorption des xénobiotiques :

Cette étape correspond au passage du xénobiotique depuis son site d'administration jusqu'au compartiment central. Celui-ci est défini comme l'espace à partir duquel le xénobiotique peut être échangé avec les différents compartiments de stockage (graisse, phanères), de métabolisme (foie, poumon) et d'élimination (rein, poumon, glandes sudorales). En pratique physiologique, on considère que le compartiment central est le sang puisque la circulation sanguine générale assure les échanges avec tous les organes. L'étape de résorption concerne toutes les voies d'administration (voie orale, cutanée, sous-cutanée, rectale, pulmonaire), sauf la voie intraveineuse où le principe actif est directement introduit dans le compartiment central. Le processus d'absorption/résorption peut être passif ou actif en fonction des caractéristiques de la membrane ou des couches cellulaires à traverser.

I.3.3.2. Distribution des xénobiotiques :

Une fois la circulation sanguine atteinte, le médicament va d'abord se distribuer dans le sang puis diffuser dans les tissus.

- **Diffusion sanguine :**

Le sang renferme des éléments figurés (dont près de 99 % d'hématies) et le plasma qui comporte des protéines circulantes pouvant fixer des xénobiotiques: albumine (protéine majoritaire : 40 g/L), glycoprotéine, lipoprotéines, gammaglobulines. Dans le plasma, les xénobiotiques sont présents sous deux formes :

- ✓ Une forme liée des médicaments, qui sont sans effet pharmacologique; elle ne diffuse pas, est non métabolisable et non éliminable; c'est donc une forme de réserve

circulante dont le relargage dépend d'une constante de dissociation et du nombre de sites disponibles.

- ✓ Une forme libre, ou non liée, qui est diffusible (si non ionisée), peut être métabolisée et épurée; c'est donc la forme pharmacologiquement active qui va interagir avec une cible moléculaire (récepteur, enzyme, constituants cellulaires divers...).

- **Distribution tissulaire :**

Un xénobiotique, pour atteindre sa cible d'action pharmacologique, doit parfois traverser plusieurs tissus, de natures différentes, et qui eux-mêmes échangent ce principe actif. 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 comme la digoxine et tissu cardiaque, par exemple.

I.3.3.3. Métabolisme des xénobiotiques :

Le métabolisme d'un xénobiotique regroupe l'ensemble des transformations que va subir le médicament/toxique avant d'être épuré de l'organisme. Diverses réactions enzymatiques, conduisent à des modifications de la structure chimique du xénobiotique (généralement liposoluble), le rendant le plus souvent inactif, davantage hydrosoluble et donc facilement éliminé dans les urines. Les toxiques hydrosolubles ne subiront pas cette étape et pourront être éliminés directement. De nombreux tissus (poumon, rein, intestin...) peuvent réaliser ces transformations mais l'organe le plus actif est le foie. En effet, les hépatocytes renferment un système enzymatique, le cytochrome P450 (CYP), composé d'une superfamille d'isoenzymes à fer impliquées dans la transformation des xénobiotiques. On distingue deux étapes dans le métabolisme : les réactions de phase I (réactions de fonctionnalisation) et celles de phase II (réactions de conjugaison). Ces réactions peuvent être couplées [23, 24].

I.3.3.4. Élimination des xénobiotiques :

L'élimination est l'étape finale du devenir du toxique dans l'organisme. Elle concerne l'ensemble des xénobiotiques qu'ils soient présents sous forme inchangée (molécule hydrosoluble), sous forme de métabolites toxiques, actifs ou inactifs, ou sous forme conjuguées ou non. L'élimination rénale est prépondérante en situation physiologique. On en distingue trois étapes: la filtration par le glomérule rénal, la sécrétion tubulaire et la réabsorption tubulaire. La seconde voie importante est l'excrétion hépatobiliaire. Elle permet d'éliminer des molécules mères ou des métabolites qui ne sont pas éliminés par voie rénale

(grosses molécules et molécules non hydrosolubles). Elle dépend de la sécrétion biliaire. Ce phénomène d'élimination intestinale est atténué parfois par le cycle entéro-hépatique. La bile contenant la molécule, souvent sous forme d'un dérivé conjugué, est déversée au niveau du duodénum. Les substances conjuguées peuvent subir en aval une hydrolyse (par des enzymes bactériennes), libérant la molécule mère qui peut être alors résorbée et rejoindre les circulations porte puis générale. On constate alors un effet rebond au niveau des concentrations plasmatiques. Les molécules subissant un cycle entéro-hépatique seront donc éliminés lentement (par exemple, la morphine)

D'autres voies d'élimination, plus accessoires, existent. L'excrétion salivaire utilise un mécanisme 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 et des corticoïdes, de certains antiépileptiques). L'excrétion pulmonaire n'intéresse que des composés volatils c'est-à-dire des composés ayant une pression de vapeur importante (alcool, anesthésiques généraux inhalés) quelle que soit leur voie d'administration. Quant à l'excrétion lactée, elle concerne la plupart des médicaments liposolubles, capables de pénétrer dans la glande mammaire par diffusion passive (antiépileptiques, psychotropes). Les conséquences de ce passage doivent être prises en compte en cas d'allaitement maternel, la concentration d'un xénobiotique dans le lait pouvant parfois dépasser celle du plasma. Enfin, certaines pathologies entraînant des pertes liquidiennes importantes peuvent être une source d'élimination des xénobiotiques : par diarrhée, par vomissements ou sudation exagérée.



**CHAPITRE II CIRCONSTANCES DE L'EXPERTISE
TOXICOLOGIQUE**

II.1. Drogues et conduite automobile :

II.1.1. Les accidents de la route :

Un accident de la route est défini comme étant une collision impliquant un véhicule sur une route qui a causé des dommages ou des blessures à une personne, un autre véhicule à cause de la vitesse excessive ou l'alcool et la consommation de stupéfiants [25].

II.1.2. Drogues impliquées :

Par définition, on appelle drogue toute substance naturelle ou synthétique qui pourrait modifier le comportement ou l'état psychique d'une personne. La principale drogue impliquée dans les accidents de la route est l'éthanol, couramment appelé l'alcool [26].

II.1.2.1. L'alcool:

L'alcool pose un problème majeur de santé publique. Une consommation excessive ponctuelle d'alcool est fréquemment associée à une augmentation du risque d'accidents, d'actes de violence et peut également conduire à court ou à long terme à de graves problèmes sociaux. Lorsque cette consommation devient excessive et chronique (éthylisme), elle peut entraîner des risques importants pour la santé, tels que le développement de cirrhoses du foie, de cancers de l'œsophage, de troubles neuropsychiatriques souvent irréversibles et une mortalité prématurée [27]. La conduite sous l'influence de l'alcool est considérée l'une des causes les plus impliquées dans la mortalité routière avec un taux de 30% [28]

II.1.2.2. Toxicocinétique de l'alcool

- **Absorption :**

La principale voie de pénétration de l'éthanol dans l'organisme est la voie orale. Les voies respiratoire et cutanée sont quantitativement négligeables en dehors de situations accidentelles. Après ingestion, l'éthanol passe directement par la muqueuse buccale et par l'œsophage puis est absorbé au niveau de l'estomac (environ 10 %) et surtout immédiatement après le passage pylorique, au niveau du duodénum et du jéjunum proximal (70 à 80 %), L'éthanol atteint ensuite le foie par la veine porte puis la circulation générale. Après la prise d'alcool, le pic sanguin est atteint en moyenne en 45 à 60 minutes [29].

- **Distribution :**

L'alcool se distribue, en quelques minutes, dans l'ensemble de l'organisme, vers les organes très vascularisés comme le cerveau, les poumons et le foie, et se dilue dans toute l'eau du corps soit environ 60 à 70 % de son poids. Ce pourcentage est plus élevé chez les sujets maigres que chez les sujets obèses, le tissu adipeux ne contenant que très peu d'eau. Le

volume de distribution de l'alcool est donc plus faible chez la femme (0,5 L/kg) par rapport à l'homme (0,65L/kg).

- **Métabolisme :**

L'essentiel du métabolisme de l'éthanol a lieu par oxydation au niveau du foie ; cependant d'autres tissus peuvent également participer comme le rein et le tractus gastro-intestinal, mais pour une faible part [30–32]. Le métabolisme hépatique élimine plus de 80 % de l'alcool ingéré grâce à trois grandes étapes. Dans un premier temps, l'éthanol est oxydé en acétaldéhyde, métabolite hautement toxique, dans le cytoplasme de l'hépatocyte ; dans un deuxième temps, l'acétaldéhyde est transformé en acétate, essentiellement dans la mitochondrie, puis dans un troisième temps, l'acétate produit dans le foie, est libéré dans la circulation sanguine et enfin oxydé lui-même par les tissus périphériques en dioxyde de carbone (CO₂), et en eau au cours du cycle Krebs. La principale voie du métabolisme de l'éthanol passe par l'enzyme dénommée alcool déshydrogénase (ADH). Cependant des voies alternatives de l'oxydation de l'alcool situées dans d'autres compartiments cellulaires ont été décrites : la voie microsomiale qui fait intervenir plusieurs isoenzymes du cytochrome P 450 (les CYP2E1, CYP1A2 et CYP3A4) localisés dans le réticulum endoplasmique lisse de l'hépatocyte [33- 34] et une voie accessoire, celle de la catalase. Ces deux dernières voies alternatives ne sont activées que suite à une exposition d'alcool prolongée : elles demeurent accessoires sauf chez les consommateurs chroniques et excessifs d'alcool. Le reste de l'alcool qui n'est pas métabolisé par le foie se retrouve dans l'air expiré, dans l'urine et la sueur. À côté de ces trois voies principales, il existe également un métabolisme non oxydatif de l'éthanol aboutissant à la formation d'esters éthyliques d'acides gras (FAEE) et de phosphatidylethanol, de l'éthyl sulfate et de l'éthyl glucuronide, composés présentant un intérêt comme biomarqueurs de l'imprégnation éthylique [32].

- **Élimination :**

L'éthanol non métabolisé est éliminé par l'air expiré, la sueur et les urines. Une très faible quantité (moins de 0,5 %) est éliminée sous forme d'éthyl glucuronide et de ethylsulfate, C'est sur l'élimination pulmonaire que repose l'estimation de l'alcoolémie à partir des concentrations retrouvées dans l'air expiré. En effet, le rapport des concentrations en alcool dans le sang par rapport à l'air expiré est de l'ordre de 2100 ce qui permet d'apprécier l'alcoolémie (en g/L) en mesurant la concentration d'éthanol dans l'air expiré (en mg/L d'air) et en la multipliant par ce facteur. Rappelons cependant que ce n'est qu'une approximation et en aucun cas une valeur de

l'éthylomètre ne doit être transformée en concentration sanguine; il faut définitivement admettre que dosage sanguin et mesure dans l'air expiré sont des modes d'expression différents d'un état d'imprégnation alcoolique [35].

II.1.2.3. Effets aigus de l'alcool

Les effets de l'alcool sont nombreux sur le conducteur, il agit sur :

- ✓ Le temps de réaction devient plus lent avec un ralentissement des réflexes ce qui réduit la capacité de réagir rapidement aux différentes situations.
- ✓ La vision : L'alcool peut ralentir le fonctionnement des muscles oculaires, altérer les mouvements oculaires et la perception visuelle, ce qui peut entraîner une vision floue. La perception des couleurs peut également être altérée.
- ✓ Concentration : L'alcool peut réduire la capacité de juger la position de la voiture sur la route, ou l'emplacement d'autres véhicules, de la ligne centrale ou des panneaux routiers.
- ✓ Vigilance : L'éthanol peut également entraîner une diminution de l'attention à la conduite et/ou de la somnolence
- ✓ Compréhension : la capacité de prendre des décisions rationnelles est altérée.
- ✓ Coordination : La réduction de la coordination œil/main/pied peut être causée par la consommation excessive d'alcool [36].
- ✓ Prise de risque accrue : difficulté à maintenir une vitesse et une trajectoire constantes, excès de vitesse, défaut de porter une ceinture de sécurité, imprudence ainsi qu'un faux sentiment de confiance [37].

II.1.2.4. Milieux d'analyse et interprétation

- **L'air expire :**

Le dosage de l'éthanol dans l'air expiré permet une détermination indirecte mais rapide de l'alcoolémie. En Algérie, le taux légal permis aux conducteurs est de 0,25 mg/l dans l'air expiré soit 0.5 g/l dans le sang. Parmi les méthodes analytiques utilisées, on cite l'éthylotest ou l'alcootest dont le protocole consiste à stocker l'air expiré dans un sac en polyéthylène de volume connu, dans le tube réactif, l'éthanol est oxydé par le bichromate de potassium jaune et donne un sel chromique de coloration verte. Cette technique est non-officielle, le résultat doit être confirmé par un dosage de l'alcoolémie par les méthodes officielles. Un autre moyen de dépistage rapide, l'Éthylomètre : il permet une détection IR (3,3 à 3,5 nm) de l'alcool dans l'air expiré.

- **Le sang :**

Il faut utiliser un désinfectant ne contenant aucun alcool ni substance volatile avant de faire un prélèvement par ponction veineuse au pli du coude. Deux **tubes** de 5 cc doivent être prélevés sous anticoagulant **NaF et hermétiquement** fermés, le 1er sert au dosage de l'alcoolémie et le 2ème pour la contre-expertise (contrôle) à conserver 3mois à +4°C [38]

- **L'humeur vitrée :**

La détermination de la concentration en éthanol dans **l'humeur vitrée** (HV) est l'utilisation la plus fréquente de cette matrice en toxicologie médico- légale [39]. Le protocole de prélèvement consiste à aspirer directement l'humeur vitrée à l'aide d'une seringue hypodermique peut produire 2-3 ml de liquide par œil. L'aiguille doit être placée dans le globe central et aspirée par une légère augmentation. La conservation avec le fluorure de sodium est généralement recommandée.

II.1.2.5. Méthodes de dosage de l'alcoolémie

- **Méthode de Curry :**

Principe : Le dosage de l'alcoolémie par le test de Curry peut être effectué sur sang total prélevé sur fluorure de sodium. On utilise des cellules de Conway.

Mode Opératoire : Dans le compartiment central d'une cellule de Conway, placer 1 ml de réactif sulfochromique. Dans le compartiment latéral, placer 1 ml de sang et, à l'opposé, 1ml de solution saturée de carbonate de potassium. Fermer la cellule, l'étanchéité étant assurée, mettre en contact le sang et la solution saturée de K_2CO_3 par un doux mouvement de rotation. Placer la cellule sur la table oscillante pendant 15 minutes. Faire un témoin dans les mêmes conditions, en remplaçant le sang par un millilitre d'eau distillée (ou 1 ml de sang frais ne contenant pas d'alcool).

Résultats et interprétation : Après quinze minutes, placer la cellule sur fond blanc et examiner le compartiment central après avoir homogénéisé le contenu à l'aide d'un petit agitateur en verre « très important » Comparer la coloration de la solution avec celle du témoin.

- Si la coloration reste jaune sans aucun changement : Alcoolémie < 0,5 g par litre.
- Si la coloration jaune virera au vert ou bleu : Alcoolémie > 0,5 g par litre.

Le changement de la teinte de la coloration n'est que pour des taux voisins ou supérieurs à 1 gramme par litre.

Dans ce dernier cas, il est nécessaire d'effectuer un dosage selon la méthode habituelle, de façon à préciser le taux d'alcool dans le sang.

- **Dosage par L'ALCOOTEST :**

Principe : L'ALCOOTEST permet de déceler la présence d'alcool dans le sang à partir de l'air expiré. Ce test est utilisé par la prévention routière. Le principe de cette technique est basé sur le fait qu'environ 2 L d'air alvéolaire contiennent la même quantité d'éthanol qu'un 1ml de sang.

Description du matériel de l'ALCOOTEST :

Les boîtes ALCOOTEST contiennent 10 tubes réactifs, 10 embouchures stérilisées et une poche en matière plastique. Les tubes ALCOOTEST, scellés aux deux extrémités, contiennent une masse réactive jaune qui se colore en vert en présence de vapeurs d'alcool.

Sur le tube ALCOOTEST sont imprimés :

1. Une flèche indiquant le sens dans lequel doit être expulsé l'air expiré;
2. Un anneau repère blanc, qui divise la Coluche réactive jaune en deux parties égales.

Conditions de conservation et utilisation : Les tubes Alcotest peuvent être stockés pendant trois ans, à la condition d'être conservés sous emballage fermé à l'abri de la lumière et à une température inférieure à 30°C. Toutefois avant utilisation, on s'assurera que le contenu des tubes ALCOOTEST est toujours d'un jaune pur.



Figure 4 : Dispositif alcotest

Résultats : Sera considérée comme positive toute épreuve dans laquelle la masse réactive jaune virera au vert; L'épreuve de L'ALCOOTEST doit faire au plus tôt 15 minutes après l'absorption de boissons alcoolisées Ce temps d'atteinte est également nécessaire après utilisation d'une vaporisation buccale;

De plus, la personne à tester ne doit pas fumer ou sucer de bonbons alcoolisés, ni immédiatement dans les 15 minutes précédant l'épreuve, ni pendant le test. La coloration brune résultat d'une forte proportion de fumée de tabac, peut altérer la coloration réactive initiale. Dans ce cas, le contrôle doit également être répété après 15 minutes.

- Dosage par la méthode de CORDEBARD :

Principe : Séparation de l'éthanol par distillation en présence d'acide picrique (action défécatoire et antimousse). L'éthanol grâce à ces propriétés réductrices est dosé par une solution nitro chromique à froid en excès, L'excès d'oxydant est dosé en retour par iodométrie. Un essai à blanc est pratiqué en parallèle (remplacement du distillat par de l'eau distillée).

Mode opératoire :

1. Extraction :

Introduire 5 ml de sang récolté sur oxalate ou NaF, en agitant constamment dans le ballon renfermant 70 ml de solution saturée d'acide picrique et quelques billes de verre. Distiller 40 ml dans une fiole jaugée de 50 ml préalablement garnie de 5 ml de l'eau distillée. A la fin de la distillation rincer le tube et compléter à 50 ml à l'aide de l'eau distillée, Agiter.

2. Dosage :

Dans un tube : 10 ml de la solution nitro chromique 0,1 N + 5 ml du distillat. Boucher puis agiter. Introduire l'iodure de K puis titrer par du thiosulfate de Na 0,1 N jusqu'à disparition de la coloration jaune et virage au bleu des sels chromiques. (X_1) et faire le même essai témoin en remplaçant le distillat par de l'eau distillée (X_2).

Calcul : Taux d'alcoolémie = $(X_2 - X_1) \times 1,15$ g d'alcool / L de sang

3. Interprétation :

Alcoolémie	Clinique
$\leq 0,5$ g/L	Pas de signes cliniques appréciables
0,50 – 1 g/L	Pas de symptômes apparents Diminution du pouvoir de concentration Tout sujet sensible ou hypoglycémique présente un état d'ébriété.
1-1,5 g/L	Ivresse à 1,50 g/L
2 g/L	Perte d'attention et incoordination motrice.
3-4 g/L	Coma éthylique
5 g/L	Seuil des concentrations mortelles
8-10 g/L	Mort quasi-certaine

- Dosage par Chromatographie en phase gazeuse (CPG) à détecteur FID (à ionisation de flamme) :

Principe : La CPG permet de séparer des molécules d'un mélange éventuellement très complexe de nature très diverses. Le mélange à analyser est vaporisé à l'entrée d'une colonne, qui renferme une substance active solide ou liquide appelée phase stationnaire, puis il est transporté à travers celle-ci à l'aide d'un gaz porteur (ou gaz vecteur). Les différentes molécules du mélange vont se séparer et sortir de la colonne les unes après les autres après un certain temps qui est fonction de l'affinité de la phase stationnaire avec ces molécules.

II.1.2.6. Seuil légal de l'alcoolémie

En Europe : La limite légale n'est pas la même dans tous les États membres de l'UE. Le tableau II présente les limites légales des 21 États membres de l'UE. Certains pays européens ont des pénalités différentes pour différentes limites et des limites différentes pour les conducteurs débutants et les conducteurs professionnels [40].

Tableau II: Limites légale de l'alcoolémie en g/l dans les êtas membres de l'UE

Pays	Seuil limite de l'alcoolémie g/L
Allemagne	0,5
Australie	0.5
Belgique	0.5
Chypre	0.22
Danemark	0.5
Espagne	0.5
Estonie	0.2
Finlande	0.22
France	0.5
Grèce	0.5
Irlande	0.5
Italie	0.5
Lettonie	0.5
Lituanie	0.4
Luxembourg	0.5
Malte	0.8
Pays-Bas	0.5
Pologne	0.2
Portugal	0.5
Royaume-Uni	0.8
Slovénie	0.5

Aux États-Unis : La limite légale de l'alcoolémie aux états unis est de 0,8 g/l [40].

Afrique : L'Afrique du Sud a fixé un seuil de 0,5 g/l d'alcoolémie, cependant dans la région maghrébine les limites légales diffèrent d'un pays à l'autre (Tableau III) [41, 42].

Tableau III : Limites légales de l'alcoolémie en g/l

Pays	Seuil limite de l'alcoolémie en g/l
Algérie	0,2
Libye	Non renseigné
Maroc	0,5
Mauritanie	Interdiction totale
Tunisie	0,3

II.2. Soumission chimique :

II.2.1 Définition :

La soumission chimique (SC) est définie par l'administration à une victime et à des fins criminelles (viol, pédophilie) ou délictuelles (violences volontaires, vols), de substances psychoactives, sans le consentement de la victime ou sous menace [43].

II.2.2. Prévalence :

La prévalence de la soumission chimique ne cesse d'augmenter à travers le monde, l'utilisation de substances psychoactives est de plus en plus observée que ce soit pour des agressions sexuelles le plus souvent des cas ou pour des vols [44].

II.2.3. Effets recherchés par l'agresseur :

Selon une étude réalisée, les effets pharmacologiques recherchés sont de 8 types, seuls ou associés [45]

1/L'action sédatif : L'état de vigilance de la victime est altéré. Ce qui diminue la volonté et la résistance psychique, abaisse les barrières morales et facilite le passage à l'acte [45].

2/L'action amnésiant : entraîne une altération de la mémoire, ayant pour but d'introduire le doute chez la victime, la rendant incapable d'établir la chronologie des faits.

3/L'action hypnotique : la victime devient sous l'emprise de l'agresseur, elle commence à réaliser des actes dictés par l'assaillant.

4/L'action narcotique : engendrant un sommeil artificiel, responsable d'une torpeur entrecoupée de rêves éveillés généralement tranquilles.

5/L'action anxiolytique : diminue la méfiance et engendre un sentiment de tranquillité chez la victime.

6/L'action myorelaxante : induit une relaxation musculaire ne permettant pas à la victime de se défendre.

7/L'action dysleptique : est responsable de l'effet hallucinogène qui perturbe l'activité mentale engendrant une perte des notions spatio-temporelles.

8/L'action euphorisante : essentiellement recherchée dans les viols, rend la personne soumise chimiquement et plus adhérente aux faits ou la rend incapable à s'y opposer.

II.2.4. Les substances utilisées :

Il est préférable que ces substances soient rapidement éliminées de l'organisme (demi-vie courte). Idéalement, elles doivent aussi être incolores, sans odeur et sans goût.

La drogue la plus utilisée est le GHB dite « drogue du violeur », viennent en second lieu les benzodiazépines. D'autres classes de médicaments telles que les antihistaminiques (alimémazine (Théralène®), hydroxyzine (Atarax®)) ou les neuroleptiques (cyamémazine (Tercian®)) sont également utilisées. Par ailleurs, La consommation d'alcool et de cannabis est souvent mise en évidence, notamment chez les jeunes.

II.2.5. Les prélèvements utiles :

Trois prélèvements sont utiles en cas de soumission chimique. Il s'agit du sang, de l'urine et des cheveux ou poils. Ces prélèvements doivent être réalisés le plus rapidement possible après les faits présumés, les molécules administrées à l'insu de la victime s'éliminant de l'organisme. Par exemple, le GHB ne subsiste que 5 à 6 heures dans le sang et au maximum une douzaine d'heures dans les urines [46].

II.2.6. Analyse toxicologique :

La soumission chimique repose souvent sur l'administration d'une seule dose de substance active à demi-vie courte. Les concentrations sanguines ou urinaires sont donc généralement faibles. Ainsi, les méthodes conventionnelles telles que la CPG couplée à un spectromètre de masse ou la chromatographie liquide couplée à un détecteur à barrettes de diodes, peuvent avoir une sensibilité insuffisante pour la détection des produits recherchés. Quant aux concentrations dans les cheveux, elles sont encore plus faibles. Ainsi, les techniques couplées à la spectrométrie de masse se révèlent être indispensables. La Société Française de Toxicologie Analytique (SFTA) recommande l'équipement de base suivant : [47- 49]

Pour le sang et l'urine :

- Une GC/FID : chromatographie gazeuse à détecteur à ionisation de flamme pour l'éthanol.

- Une HS/GC/MS : chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse avec introduction en espace de tête, pour les substances volatiles.
- Une GC/MS : chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse.
- Une LC/DAD : chromatographie liquide à détecteur à barrette de diodes pour les stupéfiants, le GHB et certains médicaments tels que les hypnotiques et les antihistaminiques.
- Une LC/MS : chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse pour la recherche d'autres médicaments tels que zolpidem, zopiclone, certaines benzodiazépines et le LSD ;
- Quand les prélèvements sont tardifs, GC/MS/MS et LC/MS/MS sont recommandées.

Pour les cheveux :

- Une GC/MS pour les stupéfiants.
- Une GC/MS et une LC/DAD pour une recherche large de médicaments.
- Une LC/MS/MS pour les hypnotiques et les benzodiazépines.
- Une GC/MS/MS pour le GHB et le cannabis en prise unique.

II.3. Dopage :**II.3.1. Définition :**

La première définition officielle du dopage date de 1963. Elle a été publiée par le Conseil du Comité européen : "Le dopage représente l'utilisation de substances ou de médiateurs physiologiques, qui ne sont normalement pas présents dans le corps humain, introduits comme une aide externe pour augmenter les performances des athlètes lors d'une compétition"[50-51].

II.3.2. Substances utilisées pour le dopage :**II.3.2.1. Érythropoïétine (EPO) :**

Les athlètes visent à augmenter la concentration des globules rouges et, par conséquent, l'amélioration de l'oxygénation.

II.3.2.2. L'activateur continu du récepteur de l'EPO (CERA) :

Les athlètes peuvent utiliser le CERA pour augmenter la capacité de transport de l'oxygène afin d'accroître leur endurance. Les sportifs peuvent l'utiliser également après l'entraînement pour favoriser un rétablissement plus rapide.

II.3.2.3. Stéroïdes anabolisants :

L'augmentation de leur concentration dans le sang pourrait aider les athlètes à augmenter la masse et la force des muscles ainsi que d'accroître la confiance en soi et le sens de combativité. Les sportifs qui utilisent des stéroïdes anabolisants comme par exemples : la testostérone, le stanozolol, le boldenone, la nandrolone et clostebol, affirment également qu'ils réduisent la graisse corporelle et le temps de récupération après une blessure.

II.3.2.4. Hormone de croissance (hGH) :

Le rôle principal de l'hGH dans la croissance du corps est de stimuler le foie et d'autres tissus à sécréter le facteur de croissance l'insulin like growth factor-1 semblable à l'insuline. Celui-ci stimule la production de cellules cartilagineuses, ce qui entraîne la croissance osseuse et joue également un rôle clé dans la croissance des muscles et des organes. Tous ces éléments peuvent améliorer les performances sportives.

II.3.2.5. Dopage sanguin : il y a deux formes de dopage sanguin. La première forme est le dopage sanguin autologue qui est la transfusion de son propre sang, qui a été stocké, réfrigéré ou congelé, jusqu'à besoin. La deuxième forme est le dopage sanguin homologue qui est la transfusion de sang provenant d'une autre personne du même groupe sanguin.

II.3.2.6. Diurétiques :

Les diurétiques peuvent être utilisés dans un sport comme agent de masquage pour empêcher la détection d'une autre substance interdite. En plus de masquer d'autres produits, les diurétiques peuvent également aider les athlètes à perdre du poids lorsque le sport pratiqué exige un poids particulier. Les diurétiques couramment utilisés comprennent le furosémide, le bendroflumethiazide et la metolazone.

II.3.2.7. Dopage génique :

Les progrès en thérapie génique pour des raisons médicales peuvent être également utilisés par certains pour des raisons détournées afin de modifier leurs gènes pour améliorer leurs capacités physiques. Bien qu'on ne sache pas encore si cela a déjà été fait dans la pratique, le dopage génétique pourrait théoriquement être utilisé pour augmenter la croissance musculaire, la production sanguine, l'endurance, la dispersion de l'oxygène et la perception de la douleur. Le dopage génétique est défini par l'AMA comme le transfert d'acides nucléiques ou de séquences d'acides nucléiques et l'utilisation de cellules normales ou génétiquement modifiées. Il n'existe actuellement aucune méthode de test capable de détecter le dopage génétique [52] [53].

II.3.2.8. Autres substances :

Plusieurs autres substances ont été utilisées comme stimulants tels que la cocaïne, les amphétamines, caféine, d'autres comme les glucocorticoïdes sont utilisés pour dépasser les sensations douloureuses, les narcotiques sont également exploités à cet effet. Les substances employées pour le dopage restent nombreuses c'est pour cela que l'AMA a élaboré une liste des interdictions incluant les substances et les méthodes ne devant pas être utilisées, cette liste est révisée annuellement par cette agence afin de l'adapter aux actualités.

II.3.3. L'autorisation d'usage à des fins thérapeutiques :

Lorsqu'un athlète souffre d'une maladie ou d'une blessure nécessitant un traitement médicamenteux qui fait appel aux substances et méthodes interdites listées par l'AMA dans la liste des interdictions, le sportif peut faire une demande d'une autorisation d'usage à des fins thérapeutiques afin de bénéficier des soins nécessaires jusqu'à rétablissement. Afin de suivre le processus d'obtention d'une autorisation d'usage à des fins thérapeutiques, le sportif doit communiquer avec les fédérations internationales ou organisations nationales antidopage qui vont lui transmettre les étapes à suivre.

II.4. Abus aux drogues :**II.4.1. Définition :**

L'abus des substances est défini par la consommation néfaste et répétée de toute substance. Il peut s'agir de substances légales, de médicaments ou de substances interdites, ainsi que de certaines substances qui ne sont même pas classées comme des médicaments. L'abus peut se produire lorsque l'utilisation de la substance ne se fait pas de la manière recommandée ou lorsque l'individu consomme d'une façon récurrente une dose élevée d'une substance [54]. En Algérie, la production, le trafic et la consommation de drogues illicites est interdites par la loi.[41,42].

II.4.2. Signes d'abus et de dépendance aux substances :

L'abus aux drogues sont distingués par des :

Signes physiques :

- ✓ Troubles de sommeil : insomnie ou dormir pour des heures
- ✓ Problèmes dermatologiques : Acné, pâleur, problème de pigmentation
- ✓ Sur le plan oculaire : Myosis ou mydriase, irritation des yeux

- ✓ Détérioration de l'hygiène
- ✓ Changements brusque du poids

Signes psychologiques :

- ✓ Augmentation de l'agressivité
- ✓ Changements d'attitude
- ✓ Léthargie
- ✓ Dépression
- ✓ Changements soudains dans un réseau social

II.4.3. Drogues impliquées**II.4.3.1. Les stupéfiants :**

Les stupéfiants constituent un danger pour le conducteur, contrairement à l'alcool, il n'existe pas de relation directe entre la concentration de la substance illicite et son effet sur l'organisme et donc la définition d'une limite légale pour chaque drogue n'a pas été établie. Cependant, plus la consommation de la substance est augmentée, plus les effets néfastes seront soutenus [55].

a) Le cannabis :

Le cannabis est le stupéfiant le plus consommé au monde .Le cannabis contient de nombreux cannabinoïdes. Le cannabidiol est le composé prédominant dans la plante. Il possède des propriétés anti-inflammatoires et sédatives. Néanmoins, le véritable principe actif du cannabis, est le δ -9-trans tétrahydrocannabinol ou THC. Ce psychodysléptique majeur se trouve en concentration variable selon la forme et les échantillons de la drogue (de 5 à 30 %). Plus sa concentration est élevée, plus les effets du cannabis sont importants.

Absorption :

Après inhalation de la fumée de cannabis, 10 à 50 % du THC sont absorbés et passent très rapidement dans le sang[56].Le pic plasmatique qui dépend de la dose et de l'individu est obtenu en sept à dix minutes. Dans le cas d'une prise orale, les pics plasmatiques se produisent plus tardivement (une à trois heures) et les teneurs sanguines sont inférieures à celles observées après inhalation.

La distribution :

Le THC ainsi que ses métabolites se distribuent rapidement dans tous les tissus riches en lipides dont le cerveau. Leur volume de distribution dans l'organisme est donc élevé : quatre à 14 L/kg pour le THC. Cette fixation tissulaire importante justifie la rapide diminution

des concentrations sanguines mais explique aussi, pour partie, les effets prolongés de cette drogue [57].

Le métabolisme :

Le THC subit, au niveau des microsomes hépatiques, un métabolisme oxydatif conduisant aux composés suivants :

- 11-hydroxy-tétrahydrocannabinol (11-OH-THC). Métabolite psychoactif, ses concentrations sanguines sont de 4 à 20 ng/ml après 20 minutes et inférieures à 1 ng/mL 4 heures après le début de l'inhalation [58]. Lorsque le cannabis est consommé par ingestion, la quasi-totalité du THC est hydroxylée (principalement en 11-OH-THC) au niveau de la muqueuse intestinale, ce qui se traduit dans le compartiment sanguin par une concentration en 11-OH-THC

supérieure à celle du THC.

- le 8 β -hydroxy- Δ 9-tétrahydrocannabinol, potentiellement psychoactif mais dont la participation aux effets du cannabis est négligeable en raison de ses très faibles concentrations et d'un métabolisme très rapide.

- deux autres composés hydroxylés, dérivant des précédents et considérés comme inactifs, ont été identifiés :

le 8-bêta, 11-dihydroxy-tétrahydrocannabinol et le 8-alpha-hydroxy-tétrahydrocannabinol.

- le 11-nor-9-carboxy- Δ 9-tétrahydrocannabinol (métabolite acide, THC-COOH) Obtenu par oxydation du 11-OH THC, il ne possède aucune activité pharmacologique. Cet acide commence à apparaître dans le sang dans les minutes qui suivent l'inhalation puis sa concentration augmente tandis que celle de THC décroît.

L'élimination :

L'élimination des cannabinoïdes est lente, surtout biliaire puis fécale, mais aussi rénale et sudorale ou le lait maternel. Environ 15 à 30 % du THC sanguin sont éliminés dans les urines sous forme de THC-COOH, et 30 à 65 % le sont par les selles sous forme de 11-OH THC et de THC-COOH. Le THC-COOH est le plus abondant et on peut le détecter durant quelques jours à plusieurs mois [59].

Effets sur la santé de l'Homme :

Cette substance affecte plusieurs parties du corps humain notamment [60].

- **Système respiratoire :**

Cette substance peut aggraver les maladies respiratoires existantes, comme l'asthme et la mucoviscidose, aussi peuvent irriter les bronches pulmonaires.

- **Système circulatoire :**

Le THC se déplace des poumons vers la circulation sanguine. En quelques minutes, la fréquence cardiaque peut augmenter. Ce rythme cardiaque rapide peut durer jusqu'à trois heures. Si une maladie cardiaque est déjà présente, cela pourrait augmenter le risque de crise cardiaque. L'un des signes révélateurs de la consommation récente de marijuana : irritation oculaire, car celle-ci provoque l'expansion des vaisseaux sanguins dans les yeux

- **Système nerveux central :**

Des changements ont lieu dans le cervelet, les ganglions basaux et les zones du cerveau qui jouent un rôle dans le mouvement, le cannabis peut altérer donc l'équilibre, la coordination et les réflexes ce qui rend une conduite automobile un danger pour la vie De l'individus.

De très fortes doses de marijuana ou de fortes concentrations de THC peuvent causer des hallucinations ou des délires ainsi que la dépression, l'anxiété et l'aggravation des symptômes de la schizophrénie.

- **Système digestif :**

Fumer de la marijuana peut causer des piqûres ou des brûlures au niveau de la bouche et la gorge pendant l'inhalation. Des troubles digestifs tels que les nausées, les vomissements peuvent être attribués à la consommation du cannabis par voie orale. Il peut également endommager le foie.

- **Système immunitaire :**

Le THC peut défavoriser le système immunitaire. Des études impliquant des animaux ont montré que le THC pourrait endommager le système immunitaire, le rendant plus vulnérable aux maladies [61].

b) **Opiacés et opioïdes :**

Les opiacés sont des substances dérivées de l'opium lui-même extrait du pavot. Il existe des opiacés naturels tels que la morphine et la codéine, et des opiacés semi-synthétiques comme l'héroïne. Les opioïdes comme la méthadone et la buprénorphine sont des opiacés d'origine synthétique [62].

▪ Héroïne :

L'héroïne ou diacétylmorphine est obtenue par acétylation de la morphine, principal alcaloïde du pavot. Puissante dépression du système nerveux central, elle provoque une forte dépendance physique et psychique, poussant à la toxicomanie.

L'héroïne est sniffée, fumée ou injectée par voie intraveineuse. Elle n'est pas consommée par voie orale car le suc gastrique la transforme immédiatement en morphine.

Très lipophile, l'héroïne pénètre très rapidement dans le cerveau ce qui lui confère une activité rapide et puissante, supérieure à celle de la morphine. Quelle que soit la voie d'administration, l'héroïne atteint son pic plasmatique en cinq minutes environ et disparaît avec une demi-vie de deux à cinq minutes. Son volume de distribution est très large (25 L/kg). L'héroïne est très rapidement métabolisée par désacétylation en 6-monoacétylmorphine.

La 6-mam est ensuite hydrolysée en morphine plus lentement. La demi-vie plasmatique du 6-mam est d'environ 20 min. 6-mam et morphine sont des molécules actives et ces deux métabolites sont plus ou moins glucuronoconjugués.

Environ 80 % de la dose sont éliminés dans les urines en 24 heures. La 6-mam s'y retrouve pendant quelques heures (environ 7h) et la morphine jusqu'à trois jours.

Les effets recherchés par la prise d'héroïne sont une sensation de détente et de déconnexion avec la réalité : c'est le « voyage ». Après injection, le « flash » qui ne dure que quelques dizaines de secondes, procure un sentiment de bien-être intense, une impression de chaleur, voire un « véritable orgasme physique et psychique ». Ces effets sont souvent suivis d'une phase de somnolence.

Effet sur la santé de l'homme :

La surdose d'héroïne peut provoquer une contraction importante de la pupille, un ralentissement du rythme cardiaque, une dépression respiratoire qui conduit à une perte de connaissance, un coma et éventuellement à la mort. Cette surdose survient aussi lors d'un état de manque où après une période de sevrage, le consommateur s'injecte trop rapidement son habituelle dose de drogue qui est alors devenue trop élevée.

La mort au cours de surdoses fait souvent suite à un fléchissement de la victime qui s'affale sur le dos, tête en avant, ce qui obstrue les voies aériennes supérieures par la langue et l'épiglotte. Ceci provoque un risque d'étouffement ajoutant au risque de dépression respiratoire du toxique. Œdème pulmonaire et collapsus cardiovasculaire s'ensuivent.

▪ Morphine :

La morphine, principal alcaloïde extrait du pavot, est depuis très longtemps l'antalgique de référence auquel sont comparés tous les autres en termes d'efficacité.

-La toxicomanie à la morphine n'est pas exceptionnelle. Elle est en croissance notamment comme substitut à l'héroïne. La morphine est le principe actif de plusieurs spécialités pharmaceutiques orales ou injectables prescrites pour soulager des douleurs modérées à fortes.

Les effets de la morphine sont à leur maximum une heure après une injection sous-cutanée, 30 minutes lors d'une intramusculaire et 15 minutes en intraveineuse. Par voie orale, sa biodisponibilité est faible (20-40 %) à cause d'un effet important de premier passage hépatique.

Le pic plasmatique est alors atteint en une heure à une heure et demie.

Elle pénètre dans tous les organes (reins, foie, poumons) mais ne s'accumule pas. Sa fixation aux protéines plasmatiques est de l'ordre de 35 %. Sa demi-vie plasmatique est de deux à trois heures et son volume de distribution de deux à cinq L/kg.

La morphine est métabolisée dans le foie, principalement par une O-glucuroconjugaison et pour une faible partie, une N-déméthylation ou une O-méthylation conduisant alors à la codéine.

L'élimination est surtout urinaire essentiellement sous forme glucurono conjuguée que l'on détecte jusqu'à 72 heures dans les urines.

Effet sur la santé de l'homme :

Le surdosage de morphine est un événement grave dont les symptômes sont les mêmes qu'avec l'héroïne : somnolence, hypotension, hypothermie et rapidement dépression respiratoire pouvant mener au coma et au décès.

▪ Codéine :

La codéine est aussi un alcaloïde de l'opium et un dérivé semi-synthétique de la morphine (méthylmorphine). Elle est utilisée comme antitussif ou analgésique, soit seule, soit combinée. Après ingestion, l'analgésie apparaît en 20 min et son effet est maximal entre 60 et 120 min. Sa demi-vie plasmatique est de deux à quatre heures, son volume de distribution de 3,5 L/kg. La codéine est faiblement liée aux protéines plasmatiques (25 % environ).

Le métabolisme est d'abord hépatique (O-déméthylation et N-déméthylation), puis rénal (glucuroconjugaison). 5 à 10 % d'une dose de codéine sont métabolisés en morphine (seule responsable de l'activité antalgique et de la toxicité)

▪ **Méthadone :**

La méthadone est un dérivé synthétique opioïde remplaçant la morphine et développé comme antalgique puissant de demi-vie telle qu'une dose journalière unique suffise. Elle est indiquée dans le syndrome de sevrage aux opiacés au cours de la désintoxication et dans le traitement de substitution au long cours des dépendances à l'héroïne.

La méthadone est aussi utilisée pour les traitements de la douleur chronique et lors des soins palliatifs. Elle est aussi l'objet d'un usage détourné qui amène l'expert à fréquemment la détecter en toxicologie médicolégale seule ou en association avec d'autres psychotropes et drogues. La méthadone peut être administrée par voie orale ou parentérale. Elle est rapidement résorbés au niveau du tractus gastro-intestinal et les premiers effets analgésiques apparaissent après 30 à 60 minutes et durent de 6 à 8 heures.

Son principal métabolite, l'EDDP (2-éthylidène-1,5-diméthyl-3,3-diphényl pyrrolidine) est inactif, hydroxylé et glucuroconjugué comme la méthadone puis excrété dans l'urine.

Les effets de la méthadone sont similaires à ceux des autres opiacés. Une dose suffisante de méthadone empêche l'apparition du syndrome de manque et bloque l'effet de l'héroïne consommée parallèlement.

Grâce à sa longue demi-vie, elle est compatible avec une vie sociale et professionnelle normale.

En prise quotidienne, l'effet euphorisant de la méthadone est quasi inexistant et n'induit ni modification de la conscience ou des capacités intellectuelles ni tolérance. Elle entraîne néanmoins une dépendance semblable à celle des autres opiacés et une surdose a les mêmes caractéristiques : dépression respiratoire, œdème pulmonaire, bradycardie, coma et éventuellement décès.

▪ **Buprénorphine :**

La buprénorphine est un opioïde dérivé de la thébaïne, 25 à 50 fois plus analgésique que la morphine mais qui induit une dépression respiratoire et un syndrome de sevrage moins important ce qui en fait une alternative aux traitements de la douleur intense.

La buprénorphine est commercialisée sous forme injectable ou sublinguale et non orale en raison de sa large inactivation lors du premier passage hépatique. Par voie sublinguale, le pic plasmatique est atteint en 90 minutes, sa demi-vie biologique est de cinq heures et sa durée d'action de 24 heures donc une dose par jour doit suffire. En IM, le pic plasmatique est atteint plus rapidement (deux à cinq minutes).

La buprénorphine est métabolisée dans le foie par N-désalkylation conduisant à la norbuprenorphine plus toxique que la molécule mère. Buprénorphine et norbuprenorphine sont inactivées par conjugaison et sont éliminées principalement par excrétion biliaire (80 %) et par les urines (20 %).

La buprénorphine ne présente pas de risque théorique de dépression respiratoire due à une surdose. En réalité, l'injection des formes dissoutes de comprimés et l'association courante avec d'autres psychotropes (alcool, antidépresseurs et benzodiazépines...) pratiquée par les toxicomanes, présentent des risques de toxicité : nausées, vomissements, sueurs, somnolence, troubles respiratoires pouvant conduire au décès [63].

Techniques analytiques et prélèvements :

-Détection des opioïdes dans les matrices biologiques :

La détection et la quantification des opioïdes dans les matrices biologiques sont une étape clé de l'expertise toxicologique médico-légale :

Urine, sang et plasma :

Le dépistage urinaire des opiacés nécessite souvent une hydrolyse du dérivé conjugué afin que la totalité de la morphine se trouve sous sa forme libre avant son analyse par chromatographie gazeuse. Cette hydrolyse peut s'effectuer par addition d'un acide fort cette dernière voie, plus ancienne, reste encore aujourd'hui la plus efficace [64].

Cheveux :

Le cheveu est de nos jours la matrice la plus utilisée [65].

L'analyse des opiacés dans les cheveux débute par une étape d'extraction avant l'analyse quantitative proprement dite. Cette extraction est généralement réalisée au moyen d'un tampon ou d'un solvant. Pour les opiacés, cette étape est critique, puisque la 6-monoacetylmorphine, sous des conditions acides ou basiques non contrôlées, est rapidement hydrolysée en morphine. Cette dégradation posséderait le toxicologue analyste d'un indice prouvant que nous avons affaire à une consommation d'héroïne et non de morphine. En effet,

les drogues sont généralement présentes dans les cheveux à des concentrations plus élevées que leurs métabolites contrairement à l'urine, où ces derniers sont généralement majoritaires [66].

c) La cocaïne :

La cocaïne est un alcaloïde extrait à partir des feuilles de quatre variétés *Erythroxylum* qui poussent naturellement entre 500 et 1200 mètres sur les pentes chaudes et humides du relief Indien.

Cette drogue présentée en poudre, généralement sniffée, est aussi fumée ou injectée. Le crack est une forme dérivée de la cocaïne. La cocaïne est rapidement métabolisée avec une demi-vie variable d'un individu à l'autre comprise entre 0,5 et 1,5 heure. Son volume de distribution est important (2 L/kg).

Le principal métabolite de la cocaïne est la benzoylecgonine (BZE). L'ecgonine Méthyl Ester (EME) est formée dans une moindre mesure.

Malgré un métabolisme indépendant de la voie d'administration, la pharmacocinétique de la cocaïne dépend de son mode de consommation. De plus, chez les toxicomanes chroniques, les doses quotidiennes couramment consommées, de l'ordre du gramme, entraînent une fixation tissulaire qui induit des modifications de pharmacocinétique [67].

Effet sur la santé de l'homme :

- Au niveau cutané : cicatrices d'injection, brûlures du visage lors de consommation de free-base mais aussi nécroses des tissus notamment de la cloison nasale pouvant mener à des lésions perforantes chez les consommateurs réguliers.
- Au niveau cardiovasculaire : troubles du rythme qui peuvent mener à un arrêt cardiaque.
- Augmentation de l'activité psychique : troubles de l'humeur avec irritabilité, délires paranoïdes, attaques de panique, dépressions, insomnies, amnésies.

La cocaïne est un stimulant qui provoque un flash jubilatoire plus intense que l'héroïne. Le cocaïnomanes, euphorique, indifférent à la douleur et à la fatigue, ressent un sentiment de puissance intellectuelle et physique. Un état d'ivresse et une agitation s'ensuivent puis font place à un état dépressif et à une anxiété que certains tentent d'apaiser par une prise d'héroïne ou de médicaments psychoactifs

Techniques analytiques et prélèvements :**Plasma, sang total :**

La fenêtre de détection dans ce milieu biologique est courte : 12 heures environ [68,69], le prélèvement de sang doit être effectué sur fluorure de sodium, les tubes renfermant oxalate et **fluorure de sodium à 0,25 %** convenant parfaitement à l'inhibition des estérases. Les prélèvements devront être conservés à +4 °C, ces conditions assurant une conservation pendant, au minimum, 150 jours [70] . Lorsque l'analyse doit être réalisée à plus de 48 heures, il est recommandé d'ajouter du fluorure, d'ajuster le pH du milieu à 5 et de conserver l'échantillon à -15 °C. La transformation de la cocaïne dans ces conditions est négligeable pendant 6 mois.

Urine :

L'analyse urinaire permet la mise en évidence de la cocaïne par CG/SM pendant les 24 heures suivant l'intoxication, 48 heures pour la benzoylecgonine. Le risque d'hydrolyse est encore plus important que dans le sang. L'ajustement du pH à 5 s'impose dès le prélèvement. La présence d'un réducteur est souhaitable (acide ascorbique). La conservation à -20 °C est recommandée.

Salive :

La cocaïne est quatre à cinq fois plus concentrée dans la salive que dans le plasma contrairement aux teneurs de benzoylecgonine et ecgonine méthyl ester qui sont deux à trois fois moindres dans la salive [71]. Quelques centaines de microlitres de salive dans un flacon stérile suffisent pour l'analyse. L'hydrolyse de la cocaïne in vitro est prévenue par addition d'un tampon à pH 4,5 au prélèvement qui est réfrigéré ou congelé si l'analyse est différée [72].

Humeur vitrée :

Réservé à des investigations à caractère médico-légal, ce milieu permet de mettre en évidence la cocaïne et ses métabolites. Aucun effet de matrice n'a été mis en évidence lors de l'utilisation des courbes de calibration réalisées dans le sang mais il ne semble pas qu'une corrélation puisse être établie entre teneurs de ce milieu et le sang [73].

d) Amphétamines :

Les amphétamines représentent une classe de composés psychotropes, largement utilisés pour leurs propriétés stimulantes, euphoriques, anorectiques et, dans certains cas, empaathogènes, entactogènes et hallucinogènes. Ces composés dérivent de la structure centrale

de la β -phényléthylamine et sont caractérisés statiquement et dynamiquement par leur capacité de traverser facilement la barrière hémato-encéphalique permettant de libérer les neurotransmetteurs monoamine.

Bien que les amphétamines soient largement reconnues comme des drogues de synthèse, dont les amphétamines, la méthamphétamine et la 3,4 méthylènedioxyméthamphétamine (MDMA, ecstasy) qui sont des exemples bien connus, les humains ont utilisé des amphétamines naturelles pendant plusieurs millénaires, à savoir la cathinone (khat), obtenue à partir de la plante (*Catha Edulis*) et l'éphédrine obtenue à partir de diverses plantes du genre *Ephedra*. Plus récemment, une vague de nouvelles amphétamines a émergé sur le marché, principalement constituées de dérivés de cathinone, dont la méphédronne, la méthylone, la méphédronne et le butylone, entre autres. Cependant, les intoxications humaines par ces drogues sont de plus en plus signalées, avec des modèles similaires à ceux observés précédemment avec les amphétamines classiques. Cela n'est pas surprenant, compte tenu des structures et mécanismes d'action similaires entre les différentes amphétamines, conférant des profils toxicocinétiques et toxicologiques similaires à ces composés [74].

Mécanisme d'action :

Les amphétamines sont des substances stimulantes qui augmentent la sécrétion des catécholamines tel que la dopamine et la noradrénaline au niveau synaptique, à des doses plus élevées et surtout pour le MDMA la sérotonine est sécrétée. Le MDMA possède une affinité 10 fois plus grande pour les transporteurs de la sérotonine que pour ceux de la dopamine et de la noradrénaline[75],[76]. Un autre mécanisme d'action des amphétamines considéré est le blocage de la recapture des catécholamines par inhibition compétitive[75]. Ces mécanismes aboutissent à l'accumulation des monoamines au niveau de l'espace synaptique .

comme les autres amphétamines, les cathinones (β -kéto-amphétamine) augmentent la libération et inhibent la recapture de la noradrénaline, de la dopamine et de la sérotonine [77]. Au niveau du système nerveux périphérique, les amphétamines peuvent exercer une action directe sur les récepteurs alpha-adrénergiques et bêta-adrénergiques [78].

Effets des amphétamines sur la santé de l'Homme :

L'utilisation des amphétamines engendre des effets néfastes sur la santé de l'Homme à court et à long terme. L'institut national de lutte contre l'abus de drogues décrit l'impact de ces drogues sur l'organisme :

- ✓ Augmentation de la fréquence cardiaque et de la pression artérielle
- ✓ Température corporelle élevée
- ✓ Perte de contrôle musculaire, spasmes musculaires
- ✓ Troubles du sommeil
- ✓ Sautes d'humeur
- ✓ Faible appétit
- ✓ Dépression et fatigue

-À long terme, ces symptômes sont souvent amplifiés. L'hypertension artérielle peut endommager les vaisseaux sanguins et le cœur, tandis qu'une température corporelle élevée peut endommager les organes et les tissus.

-Une perte d'appétit peut entraîner des habitudes alimentaires malsaines pouvant évoluer vers une dénutrition.

Avec la méthamphétamine, ces problèmes peuvent être encore plus exagérés, conduisant à des maladies dentaires graves en raison de la mauvaise alimentation et le manque de salive, ce qui conduit à des infections majeures et la perte de dents. De plus, l'utilisation de la méthamphétamine peut causer des dommages à la peau en raison d'hallucinations [79].

e) **Hallucinogènes :**

L'hallucinogène est « une substance pharmacologique dont l'absorption induit chez l'homme des modifications importantes et transitoires de la perception, des processus de pensée et de l'humeur » Nombreuses substances citées préalablement peuvent conduire à des hallucinations (LSD, champignons hallucinogènes ...), ce qui rend hétérogène la classe des hallucinogènes.

✓ **LSD :**

Le LSD ou acide est le diéthylamide de l'acide lysergique, molécule structurale d'alcaloïdes de l'ergot de seigle. Il est habituellement consommé par voie orale sous forme liquide imprégnant des morceaux de sucre ou des papiers buvards mais le plus fréquemment en poudre, petits comprimés (pilés) ou cristaux.

Le métabolisme du LSD est très rapide. Absorbé au niveau gastro-intestinal, il subit une N-déméthylation, une N-déméthylation et des hydroxylations. Sa demi-vie d'élimination est de t L'absorption orale de LSD induit une intoxication en trois phases : La première, le « départ », débutant 20 à 40 minutes après la prise, dure environ deux heures avec comme signes :

dilatation de la pupille, sueurs, tachycardie, tremblements, hyperthermie et hypertension parfois accompagnés de nausées, vomissements et vertiges trois à cinq heures

Vient ensuite le « voyage » ou *trip* qui peut durer cinq à huit heures. Les troubles psychiques qui apparaissent varient considérablement selon la personnalité du sujet, son environnement et son habitude de consommation

La troisième phase est le « retour » qui demande 8 à 12 heures. Le sujet reprend contact avec le monde extérieur et sa personnalité habituelle dans un tableau d'extrême fatigue qui dure 24 à 48 heures.

✓ **Champignons hallucinogènes :**

Les champignons hallucinogènes ou « champignons magiques » sont consommés depuis plus de 2000 ans. Ils appartiennent aux familles suivantes : *Conocybe*, *Gymnophilus*, *Panaeolus*, *Psilocybe* et *Stropharia*.

Leurs propriétés sont dues à des composés indoliques dont le principal est la psilocybine au pouvoir hallucinogène estimé 50 fois plus puissant que celui de la mescaline mais 100 fois moins que celui du LSD, toutefois comme celui-ci dépendant beaucoup des individus. On les consomme sous forme sèche, en comprimés ou capsules.

II.5. Décès toxique :

Dans la mission de la recherche des causes de la mort, les analyses toxicologiques sont indispensables pour apprécier la participation des xénobiotiques dans le processus mortel. Les empoisonnements peuvent être définis par l'exposition d'un individu (par ingestion, inhalation, injection) à une quantité de substance(s) potentiellement dangereuse(s). Ces empoisonnements sont d'origine accidentelle, volontaire ou criminelle et la mort peut être le résultat des effets directs ou indirects, immédiats ou chroniques de l'exposition. Ainsi, les xénobiotiques peuvent être directement responsables du décès, mais peuvent aussi être associés à d'autres circonstances morbides telles que la noyade [79.80].

II.5.1. Définition :

Le décès est qualifié d'origine toxique lorsque le ou les xénobiotiques identifiés sont présents en concentration toxique, voire létale et ceci malgré une causalité secondaire et indirecte de cette toxicité [79].

II.5.2. Toxiques en cause :

Aux stupéfiants médicamenteux ou non médicamenteux, qui peuvent entraîner la mort suite à un surdosage ou overdose, s'ajoutent d'autres xénobiotique de diverses natures tels que les gaz asphyxiants, les produits industriels et les toxiques d'origine naturelle (tableau I)

II.5.2.1. Les asphyxiants :

Le développement de ce paragraphe est limité à quatre poisons de l'hémoglobine : oxyde de carbone, cyanures, nitrites et nitrates. L'oxyde de carbone se lie au fer de Hb perturbant ainsi le transport de l'oxygène vers les tissus. L'ion cyanure est un inhibiteur de l'oxydation de Hb. Les nitrates et les nitrites sont des agents méthémoglobinisants qui oxydent le fer ferreux de l'hème (Fe^{2+}) en fer ferrique (Fe^{3+}), le rendant incapable de fixer l'oxygène et transformant Hb en méthémoglobine (MetHb). Les quatre poisons entraînent ainsi une asphyxie.

a. Monoxyde de carbone (CO) :

Le monoxyde de carbone est un gaz inodore, incolore et insipide que l'on trouve dans les vapeurs de combustibles contenant du carbone, comme le bois, le charbon et l'essence. L'empoisonnement au monoxyde de carbone est potentiellement mortel [80] [81].

Effet sur la santé de l'homme :

Hypoxie tissulaire : L'oxygène de l'air ambiant est consommé par les phénomènes de combustion. La victime ne dispose plus assez d'oxygène nécessaire, ainsi que la quantité de monoxyde et de dioxyde de carbone augmente. Un syndrome de détresse respiratoire aigu peut survenir associé à des symptômes neurologiques lorsque la fraction inspirée d'oxygène est inférieure à 17%, la survie demeure impossible si cette valeur est inférieure à 10%. Le monoxyde de carbone a une affinité 200 fois plus élevée que l'oxygène pour l'hémoglobine et donc il s'y fixe et limite le transport d'oxygène avec formation de carboxyhémoglobine qui avec un taux de 60% est mortel. Les cyanures ainsi que le monoxyde de carbone engendrent l'effet asphyxiant en bloquant la chaîne respiratoire mitochondriale, l'acide cyanhydrique se fixe sur la cytochrome-oxydase mitochondriale et bloque la production d'ATP dans la chaîne respiratoire [82].

Analytique :

Les méthodes de dosage du CO sont nombreuses [81]. Les principaux méthodes de détermination du taux d'imprégnation de l'organisme par le CO se répartissent en deux groupes, d'une part celles qui exploitent directement les caractéristiques spectrales différentielles de HbCO et de Hb (spectrophotométrie UV visible, emploi d'un carboxymètre)

[83 ; 84 ; 85] et d'autre part celles qui mesurent le volume de monoxyde de carbone obtenu après dénaturation de HbCO.

b. Cyanure :

Le cyanure est une substance à action rapide. Il peut exister sous forme de gaz : cyanure d'hydrogène, sous forme de sel : cyanure de potassium. Les substances naturelles dans certains aliments comme les haricots de Lima et les amandes peuvent libérer du cyanure. Il est également présent dans les insecticides, les solutions photographiques et le nettoyant pour bijoux. Ce poison a longtemps été utilisé dans plusieurs homicides, suicides, et comme arme chimique. Pendant la Seconde Guerre mondiale, les nazis ont utilisé le cyanure comme agent de génocide dans les chambres à gaz[86,87, 88]. Cette substance toxique est retrouvée également dans les fumées d'incendies entraînant le décès des victimes qui y sont exposées. Le nitroprussiate de sodium, un médicament utilisé lors des urgences hypertensives, contient des molécules de cyanures [86].

-La valeur limite d'exposition tolérable est de 10 mg/m³. Des concentrations atmosphériques supérieures à 55 mg/m³ respirés pendant plus d'une 1/2 heure représentent un risque important, alors que l'inhalation pendant quelques minutes de 200 à 300 mg/m³ est potentiellement mortelle en quelques minutes 17. La Ct.L 50 c'est-à-dire, la concentration qui multipliée par le temps de respiration (pour une fonction respiratoire de 15 L/min) tue 50% des sujets est de 1000 mg.min / m³. L'ingestion de 50 mg d'acide cyanhydrique ou 200 mg de cyanure de sodium est mortelle chez l'adulte (1 mg/Kg chez l'enfant)[89].

Analytique :

Les cyanures sont déterminés dans les liquides biologiques par colorimétrie, luorimétrie, électrochimie, spectrophotométrie d'absorption atomique et chromatographie [90]. Les ions cyanures forment avec un agent de chloration du chlore cyanure qui réagit avec l'acide diméthyl-1,3-barbiturique en présence de pyridine en donnant un colorant violet.

c. Nitrates et nitrites :

Les nitrates (NO₃⁻), les nitrites (NO₂⁻) sont présents naturellement dans l'environnement sous forme ionique non volatile et proviennent de l'oxydation bactérienne (nitrosomonas) de l'ion ammonium (NH₄⁺) des eaux et des sols.[91]

-Après ingestion (principale voie d'intoxication), les nitrates sont rapidement absorbés par l'intestin grêle puis distribués dans tout l'organisme et transformés en nitrites par l'activité microbienne de la salive. En cas d'infection, les voies urinaires et vaginales ainsi que plus

rarement l'estomac lorsque le pH y est élevé ($\text{pH} > 5$), peuvent en produire.
-Des intoxications aiguës ont été associées aux nitrates chez des nourrissons exposés par l'eau de consommation de leur biberon.

-Les premiers symptômes d'intoxication apparaissent quand la méthémoglobinémie excède 10 % (taux normal 1 à 2 %) et associent principalement une cyanose de la peau avec lèvres bleutées à des problèmes respiratoires et neurologiques qui deviennent graves à partir de 50 % de MetHb. La mort survient généralement pour des taux supérieurs à 70 %.

Analytique :

Les nitrites et nitrates sont essentiellement détectés par des méthodes colorimétriques [92] hormis pour les composés organiques pour lesquels on a recours à la GC/MS en espace de tête. Une coloration rouge signale la présence de nitrites dans le milieu (Un réactif de transformation des nitrates en nitrites : le zinc en poudre (réducteur minéral).

II.5.2.2. Les Digitaliques :

Les digitaliques ou glucosides cardiotoniques, tous d'origine végétale, sont des médicaments de l'insuffisance cardiaque et de certains troubles du rythme. Ils augmentent la force de contraction du myocarde sain ou en insuffisance et des fibres lisses des vaisseaux. . Ils ralentissent le cœur et diminuent sa conduction tout en favorisant son excitabilité. C'est en inhibant la pompe $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPase}$ qu'ils exercent leur action cardiovasculaire et accessoirement diurétique.

-Aujourd'hui la **digoxine est** le seul glucoside cardiotonique utilisé en thérapeutique. Cela n'exclut pas les intoxications par les plantes, rares mais graves (digitale pourpre : digitaline, digoxine, digitoxine ; digitale laineuse : lanatoside ; laurier rose : oléandrine ; muguet : convallatoxine, convallarine ; scille maritime : scillarène ; strophanthus : strophanthine etc).

Mécanisme d'action :

-Plus la molécule est hydrophile (groupes OH nombreux) et moins elle est résorbée par le tube digestif et moins elle est fixée sur les protéines plasmatiques. Ces molécules ont un tropisme particulier pour le muscle cardiaque et il faut cinq demi-vies pour obtenir un taux sanguin stable : cinq à six jours pour la digoxine et 30 jours pour la digitoxine. Une forte dose d'attaque peut raccourcir ces délais mais l'expert doit penser qu'une surdose accidentelle ou volontaire importante peut conduire à des teneurs variables dans le sang tout en fixant rapidement sur les tissus cibles de fortes quantités d'hétérosides. Celles-ci peuvent être

responsables d'intoxications graves avant que les protéines plasmatiques ne soient saturées et donc possiblement non corrélées à la teneur mesurée.

-La recherche toxicologique des digitaliques doit être systématique dans la mesure où ces molécules sont toxiques dès les très faibles doses et pour de faibles écarts par rapport aux doses thérapeutiques efficaces.

II.5.2.3. Les psychotropes :

a) Les tranquillisants :

Famille de substances chimiques variables ayant pour but de réduire ou supprimer l'anxiété, elle est principalement représentée par les benzodiazépines, de loin les plus fréquemment détectées lors d'intoxications même si sa responsabilité directe dans la mort des victimes est rare.

✓ Benzodiazépines

Les benzodiazépines (BZD) et apparentées, sont une classe d'une grande homogénéité structurale dont l'activité pharmacologique facilite la neurotransmission inhibitrice d'un récepteur hautement spécifique de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA). Chaque benzodiazépine exerce quatre activités fondamentales : anxiolytique, anticonvulsivante, sédative et/ou hypnotique et myorelaxante, avec une intensité variable ce qui justifie l'abondance des spécialités pharmaceutiques disponibles. Elles n'ont pas d'action anti dépressive ni antipsychotique. [95; 96; 97].

Les BZD sont des bases faibles, insolubles dans l'eau, solubles dans les solvants organiques. Le dépistage peut être effectué sur le liquide de lavage gastrique, le plasma, l'urine ou un extrait méthanolique du sang total par l'utilisation du test EMIT semi-quantitatif. Après extraction des milieux biologiques (sang, urine, viscères, etc.), au besoin après déconjugaison à l'aide d'une glucuronidase, par l'éther ou un autre solvant approprié, en milieu légèrement alcalin, l'identification est faite par réactif Tréfouël ou par chromatographie en phase gazeuse ou liquide couplée à l'absorptiométrie UV et à la spectrométrie de masse [98 ; 99; 100].

✓ Barbituriques

Les barbituriques sont une classe d'hypnotiques occupant une place anecdotique en thérapeutique ayant cédé face aux benzodiazépines. Bien que majoritairement retirés du marché, il convient que le toxicologue les recherche encore en raison du trafic dont ils furent et font encore l'objet. Ces molécules également anticonvulsivantes et myorelaxantes sont considérées par l'expert en fonction de leur durée d'action

L'intoxication aiguë par les barbituriques d'action longue se caractérise par un coma d'installation progressive, l'électro-encéphalogramme pouvant comporter des silences électriques de plus de 30 minutes. La barbitémie et la profondeur du coma sont en général corrélées : le coma léger en dessous de 120 mg/L devient profond à partir de 160 mg/L. Les complications graves sont l'hypotension, l'hypothermie et la détresse respiratoire.

En présence d'un sel de cobalt II et en milieu anhydre, les barbituriques conduisent, par l'addition d'amines variées, à des complexes hexa coordonnés d'un violet intense.

Cette réaction est connue sous le nom de réaction de **Parri**.

Le dépistage des barbituriques est réalisé sur le plasma, les urines, ou les liquides de lavage gastrique après extraction en milieu acide par un solvant de type dichlorométhane ou chloroforme ou sans extraction par des méthodes immunoenzymatiques. L'identification et la quantification dans le cadre médico-légal se font par GC ou HPLC couplées à la spectrométrie de masse [101 ; 102; 103].

✓ Carbamates

Les carbamates sont des tranquillisants et sédatifs mineurs. Leur principal représentant est le méprobamate commercialisé sous les appellations d'Equanil ® et de Mépronizine ®. Le toxicologue doit y penser d'autant que l'intoxication est mortelle dans 1 à 2 % des cas. Les manifestations de l'intoxication aiguës ont un état ébrié qui peut déboucher sur un coma avec troubles hémodynamiques, anurie, collapsus, insuffisance respiratoire. Les carbamates sont extractibles par l'éther, le dichlorométhane voire l'acétate d'éthyle en milieu acide, neutre ou alcalin et détectés en GC/MS.

✓ Antidépresseurs

Ces substances sont susceptibles d'améliorer l'humeur déprimée au plan psychique (tristesse, inhibition psychomotrice, asthénie physique et sexuelle, anxiété, troubles du sommeil) et au plan physique (troubles digestifs, anorexie, hypotension, troubles respiratoires et céphalées).

Cette famille de xénobiotiques, fréquemment détectée par l'expert lors de morts toxiques, comprend plusieurs types selon le mode d'action ou la structure chimique [93 ; 94] .On distingue :

les antidépresseurs tricycliques (ADT), dits de première génération, dérivant tous de l'imipramine auxquels sont rattachés certains analogues à noyaux dibenzoxazépine, dibenzocyclopentadiène, dibenzoxazépine, dibenzoxazépine, dibenzothiophène et benzothiazépine .

les antidépresseurs de seconde génération, tétracycliques ou *de structure originale* (fluoxétine, fluvoxamine, paroxétine, sertraline, citalopram, oxaflozane, medifoxamine, viloxazine) .

les inhibiteurs de la monoamine oxydase (IMAO)

les sels de lithium sont des normothymiques ou stabilisateurs de l'humeur surtout employés dans le traitement préventif de la psychose maniaco-dépressive et en traitement curatif des états d'excitation maniaque ou hypomaniaque .

·la carbamazépine (*anti parkinsonien*) et le valproate de sodium (*anti épileptique*) qui possèdent également des propriétés normothymiques.

Effet sur la santé de l'homme :

Les intoxications aiguës notamment suicidaires par les antidépresseurs sont fréquentes et parfois très graves souvent associées à l'alcool. Le passage à l'acte des malades dépressifs traités est expliqué par la levée d'inhibition psychomotrice surtout en début de traitement. Le tableau clinique de l'intoxication peut être d'un secours utile à l'expert car il se caractérise par des signes, sinon spécifiques, assez évocateurs lorsqu'ils sont tous présents :

- **Signes neuropsychiques**

Troubles de la vigilance, coma, généralement peu profond (60 % des cas), signes d'agitation, d'hypertonie et syndrome pyramidal, convulsions (10 à 20 % des cas). Le coma se dissipe en 24 à 48 heures sauf en cas de poly-intoxications (généralement avec les benzodiazépines) pour lesquels il est plus sévère.

- **Syndrome anticholinergique** précédant parfois le coma : agitation, délire, tremblements, mydriase d'apparition rapide, sécheresse des muqueuses, rétention urinaire, constipation et risque d'occlusion.

- **Troubles cardiovasculaires** et risque d'arrêt cardiaque mortel après épisode convulsif (rare)

Les antidépresseurs et leurs métabolites peuvent être extraits des liquides biologiques voire des tissus par solvants non miscibles à l'eau (éther, dichlorométhane, etc.) en milieu alcalin.

Le test EMIT croise parfois avec les phénothiazines. La confirmation de présence par CG/MS ou HPLC/MS est indispensable.

Le dosage des métabolites actifs est nécessaire. Les formes libres et conjuguées sont différenciées par quantification avant et après hydrolyse enzymatique en présence de suc d'Helix pomatia. La lithiémie se détermine par spectrophotométrie d'absorption atomique ou d'émission et ICP/MS [104 ; 105 ; 106]

II.5.2.4. Métaux et métalloïdes :

a) Métaux :

Les métaux recherchés en toxicologie médico-légale sont principalement le thallium, le plomb, le cadmium, le mercure, le sélénium, l'antimoine et l'étain.

b) Arsenic

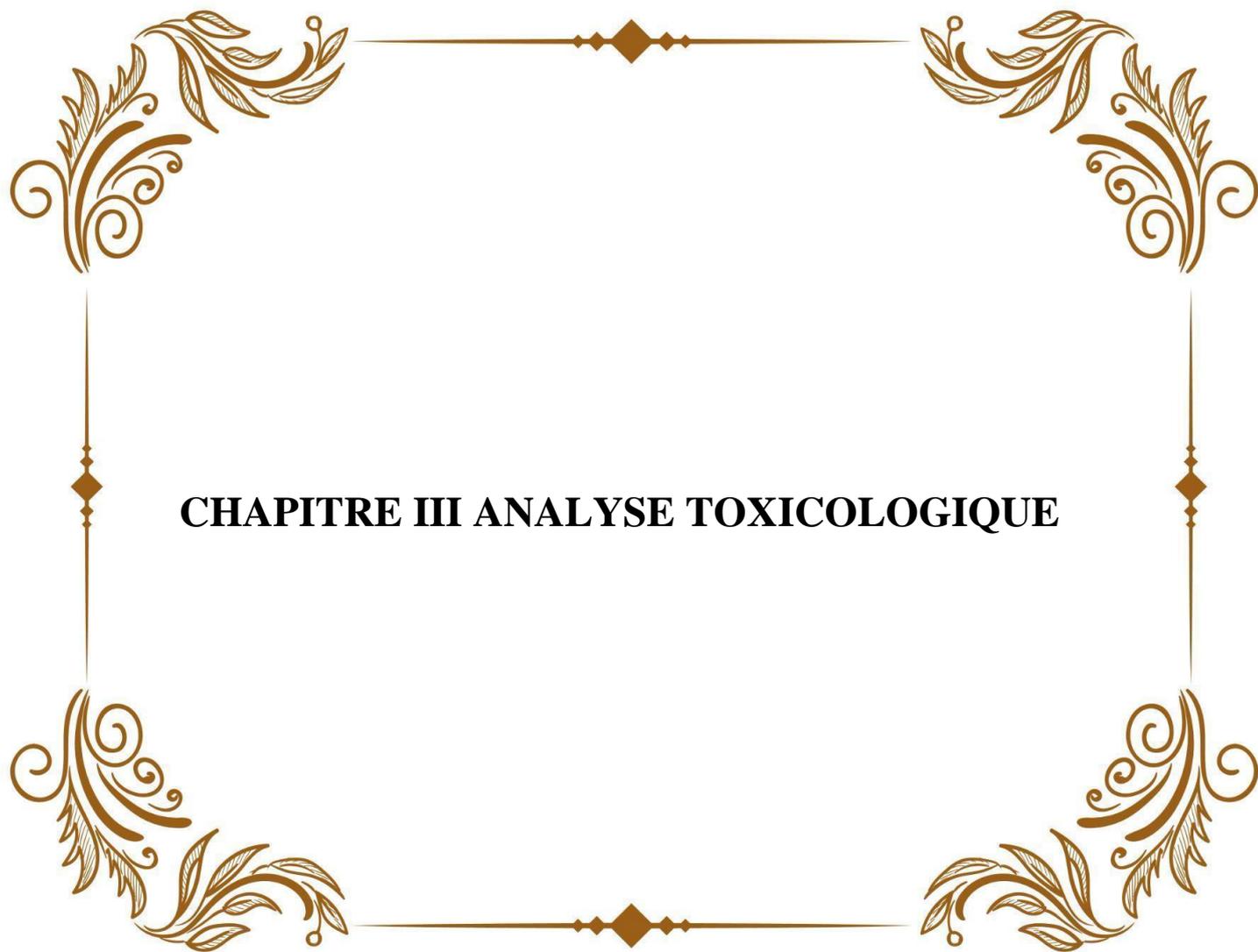
L'empoisonnement à l'arsenic est un problème de santé mondial qui touche des millions de personnes dans le monde entier en raison de l'exposition environnementale et professionnelle, ainsi que du suicide intentionnel et des tentatives d'homicide. Les homicides liés à l'arsenic font couramment l'objet de publicité dans les médias,. L'arsenic (As) est un élément métalloïde presque inodore et insipide que l'on trouve partout dans l'environnement. Il se décline en quatre états de valence communs : As(0), As(III), As(V) et Arsine gaz et trois formes communes : sel inorganique, sel organique et forme gazeuse [107 ;108 ;109].

Le métabolisme de l'arsenic a un impact direct sur ses effets toxiques, bien que le mécanisme d'action exact ne soit pas entièrement compris, il existe plusieurs hypothèses. L'arsenic (pentavalent) et l'arsenic (trivalent) sont les formes inorganiques toxiques les plus courantes ; chacune a un mécanisme proposé différent basé sur l'état de valence [110-113].

c) Techniques analytiques

Les techniques de recherche des métaux sont les spectroscopies d'absorption atomique en flamme ou en four [114 ; 115; 116] et désormais la spectroscopie d'émission à plasma inductif couplée à la spectrométrie de masse qui permet de faire un criblage rapide de 50 métaux dans les différents prélèvements biologiques [117 ; 118; 119]. Toutes destructives, ces méthodes ne conviennent pas à l'expertise de scellés très sensibles et de faible masse

l'arsenic peut être isolé à l'état de sulfure arsénieux jaune, précipité en milieu acide par un courant d'hydrogène sulfuré. Le dosage des solutions arséniures se fait à l'aide d'une solution d'iode, titrée en présence d'un excès de bicarbonate de sodium qui élimine l'acide iodhydrique au moment même de sa formation.



CHAPITRE III ANALYSE TOXICOLOGIQUE

III.1. Phase pré-analytique :

III.1.1. Le choix de l'échantillon

Le choix de l'échantillon est une étape primordiale dans l'analyse toxicologique. La pratique de l'expertise médico-légale permet de distinguer 2 types d'échantillons à visée toxicologique, des échantillons biologiques ou non biologiques, obligatoires et facultatifs (à recueillir lorsque certains échantillons obligatoires sont manquants ou qu'il peut y avoir un intérêt scientifique).

III.1.1.1. Prélèvements obligatoires :

Les prélèvements obligatoires sont au nombre de sept : sang cardiaque, sang périphérique, urines, humeur vitrée, cheveux, contenu gastrique, poumon. En cas de levée de corps, seuls les 5 premiers prélèvements sont disponibles.

- **Sang cardiaque :**

Le sang est la matrice biologique la plus importante pour le toxicologue. Le sang cardiaque présente l'avantage de pouvoir être aisément prélevé en quantité importante, Ce sang n'a qu'un intérêt qualitatif. Il va servir au toxicologue pour effectuer des recherches larges non spécifiques. Il ne doit pas être utilisé pour un résultat quantitatif car les résultats peuvent être rendus à tort en excès pour deux raisons. La première, la plus importante, est due à une lyse des cellules myocardiques, on observe une augmentation très importante des concentrations des toxiques à tropisme intracellulaire et dont la fixation tissulaire cardiaque est majoritaire. Tel est le cas de la digoxine, d'où la possibilité de l'erreur d'interprétation. La seconde est due à une redistribution post mortem depuis le contenu gastrique. Les molécules à forte diffusion (comme l'alcool) peuvent migrer de la cavité digestive vers le cœur relativement proche et entraîner des concentrations sanguines cardiaques de plus en plus élevées [120- 122].

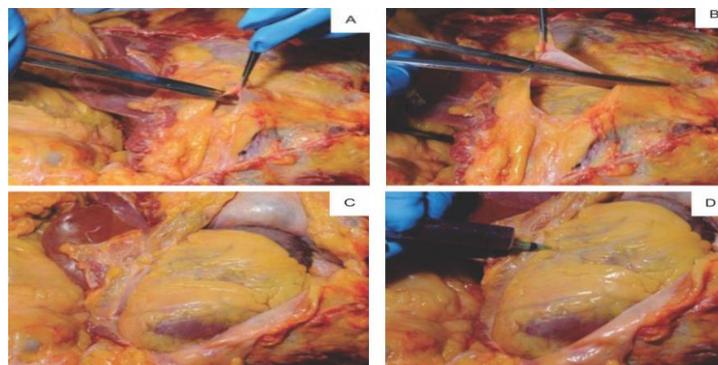


Figure 5: Pour prélever le sang cardiaque le sac péricardique est ouvert et retiré (A-C), l'échantillon est prélevé à l'aide d'une seringue au niveau de la chambre droite

- **Sang périphérique :**

Il est nécessaire de prélever quelques millilitres (5 ml) de sang périphérique additionné de fluorure de sodium (1 à 2 %) afin d'éviter l'apparition d'alcool endogène par fermentation anaérobie. Ce flacon sera réservé à l'alcoolémie et au dosage des molécules à tropisme cardiaque ou à grand volume de distribution [123].



Figure 6 Prélèvement sanguin à partir de la veine fémorale.

- **L'urine :**

-Le liquide biologique de choix prélevé pour le dépistage, permet d'obtenir des concentrations élevées de xénobiotiques et de métabolites[124].

-L'urine est généralement présente en quantité importante. La vessie se comportant comme un réservoir, les informations obtenues par analyse d'urines sont du type incrémental, sans aucune corrélation avec une éventuelle toxicité des produits identifiés (fenêtre de détection de l'ordre de 2 à 5 jours après l'exposition).

-Le prélèvement post-mortem peut être effectué en insérant l'aiguille directement au-dessus de la symphyse pubienne (examen externe seulement) à partir de la vessie (examen interne). Lorsque l'urine présente en petites quantités dans la vessie, l'ouverture de celle-ci est nécessaire pour recueillir toute quantité résiduelle.

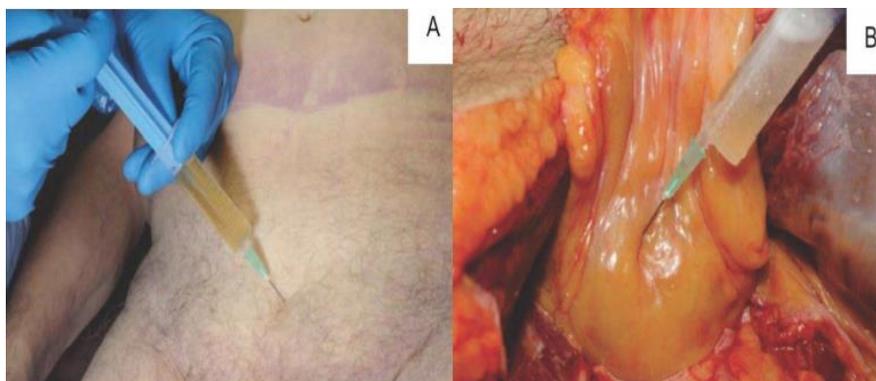


Figure 7:prélèvement urinaire post-mortem externe(A) et interne (B)

- **Humeur vitrée :**

Après la mort, le vitré se liquéfie rapidement et peut être prélevé à la seringue pendant 2 à 4 jours. Ce milieu présente un double intérêt en médecine légale : estimation du délai post mortem par analyse du K⁺ et confirmation de l'alcoolémie, liée à un grand pouvoir discriminatoire (pas ou très peu de formation post-mortem d'éthanol dans le vitré)[125 -129].



Figure 8: aspiration de l'humeur vitrée à l'aide d'une seringue de 5 ml à 10ml.

- **Cheveux :**

La fenêtre de détection des xénobiotiques a pu être complètement modifiée par l'introduction du cheveu dans l'arsenal analytique. Ce tissu possède la propriété unique d'être le marqueur des expositions répétées ou chroniques, permettant en outre d'établir le profil de consommation à long terme et son évolution. Dans la pratique, l'analyse sanguine ou urinaire et l'analyse des cheveux s'avèrent plutôt complémentaires, le sang ou les urines permettant de caractériser un usage ponctuel et les cheveux une exposition cumulée. Les cheveux sont généralement prélevés en vertex postérieur. Une mèche de 80 cheveux (diamètre d'un crayon à papier) est suffisante. Les mèches doivent être prélevées le plus près de la peau, coupées au ciseau (ne pas arracher) et orientées racine extrémité au moyen d'une cordelette, fixée 1 cm au dessus du niveau de la racine[130-132].

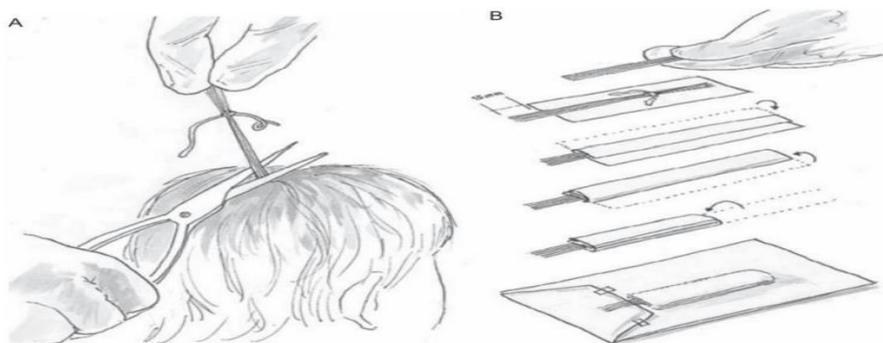


Figure 94:prélevement des cheveux (A) et recueil sur une feuille d'aluminium(B)

- **Contenu gastrique :**

Ce milieu permet d'objectiver la voie d'introduction du toxique dans l'organisme. Des concentrations massives dans le contenu gastrique sont très en faveur d'une administration orale. Des concentrations importantes peuvent également s'observer lors d'une administration intra-nasale (héroïne, cocaïne ...). L'analyse du contenu gastrique permet parfois de retrouver des fragments de médicament(s) ou de débris de végétaux. En cas d'intoxication par des caustiques ménagers, il est évidemment le milieu de choix, voire le seul, pour le toxicologue. Le contenu gastrique présente une application limitée si l'intoxication s'est déroulée par voie parentérale. L'application quantitative de cet échantillon est limitée[120 ;133;134].

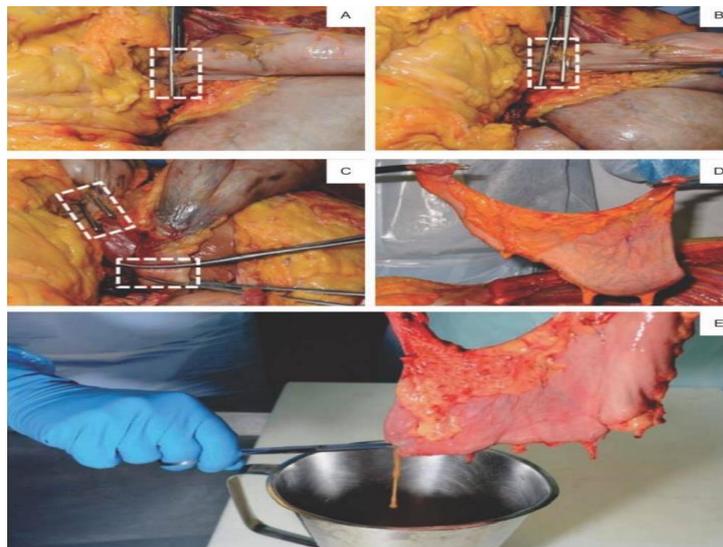


Figure 5:prélèvement de l'estomac (A-B-C-D) avec recueil du contenu gastrique (E)

- **Poumon :**

En cas de décès rapide par inhalation de substance volatile (gaz lacrymogène, gaz suffocant...), la distribution du xénobiotique dans la circulation sanguine peut être incomplète. Dans ces conditions, le tissu pulmonaire, qui est la voie d'introduction du toxique volatil dans l'organisme, apparaît comme très enrichi et permet alors d'évaluer l'incidence de l'exposition sur la survenue du décès. Mais peut aussi contribuer à la recherche d'autres éléments (exemple : paraquat). [1]

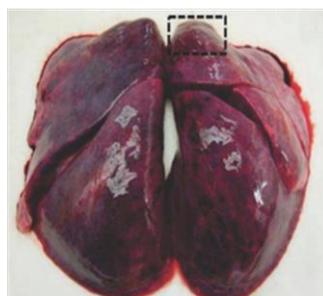


Figure 6:Echantillon pulmonaire prélevé à partir de l'apex du poumon droit

III.1.1.2. Prélèvements Facultatifs :

- **Ongles des doigts et des orteils :**

Ante-mortem, il faut prélever des rognures d'ongles de tous les doigts et orteils à l'aide de ciseaux en acier inoxydable enduits de Téflon[®] pour réduire les contaminations. Postmortem tous les ongles doivent être enlevés des doigts et des orteils. Les taux de croissance de la longueur était de 3 à 5 mm et de 1,1 mm par mois pour les doigts et les orteils, respectivement [135].

- **Sueur :**

Dans la majorité des cas, la sueur est recueillie en essuyant la surface de la peau avec du coton ou une serviette et en utilisant des patchs fixés à la peau [136]. La collecte de la sueur est non invasive et peut être poursuivie pendant une période prolongée (environ 10 à 14 jours).

Le volume maximal d'excrétion est d'environ 2 L/jour chez les sujets en bonne santé et d'environ 4 L/jour chez les athlètes entraînés, mais les volumes et les constituants sont très différents selon les individus, et leurs conditions (émotionnel, physique et thermique) [136].

- **Air expiré :**

-Cet échantillon est utilisé pour la détection de l'éthanol lors des conduites automobiles.

-L'alcootest élimine la nécessité de prélèvement de sang. Il peut être utilisé au bord de la route, et le résultat est immédiatement disponible.

-L'analyse de l'air expiré est également utile pour évaluer l'exposition à d'autres substances comme le monoxyde de carbone, le cyanure d'hydrogène, les opioïdes, la cocaïne, les amphétamines et les benzodiazépines. Cet échantillon peut être utile pour les analyses qualitatives et quantitatives.

- **Cerveau :**

Cet échantillon est pertinent pour les xénobiotiques qui agissent sur le SNC. Il est prélevé pour l'analyse des substances lipophiles et volatiles. Les concentrations de xénobiotiques ne sont pas affectées par la redistribution post-mortem ou par la putréfaction d'organes. Celles-ci peuvent varier considérablement d'une région à l'autre, mais les données actuelles ne suggèrent pas qu'une zone devrait être recueillie par rapport à une autre. Le cerveau a une teneur élevée en lipides, chose qui peut causer des problèmes analytiques. Cet échantillon est utile seulement pour l'analyse qualitative [137].

- **Rate :**

Elle est utile lorsque le sang n'est pas disponible, comme dans le cas des décès par incendie, lorsque les xénobiotiques s'accumulent dans les érythrocytes (monoxyde de carbone et cyanure). Cet échantillon est seulement destiné à l'analyse qualitative [137].

- **Foie :**

Le foie est utile pour presque toutes les drogues puisqu'il s'agit de l'organe métabolique principal ce qui rend l'analyse qualitative de certains xénobiotiques plus facile que dans le sang. Lorsqu'une analyse quantitative est nécessaire, c'est le tissu le plus prometteur. Le lobe droit profond est préférable pour éviter la contamination par la diffusion de xénobiotiques à partir du contenu gastrique dans le lobe gauche [137].

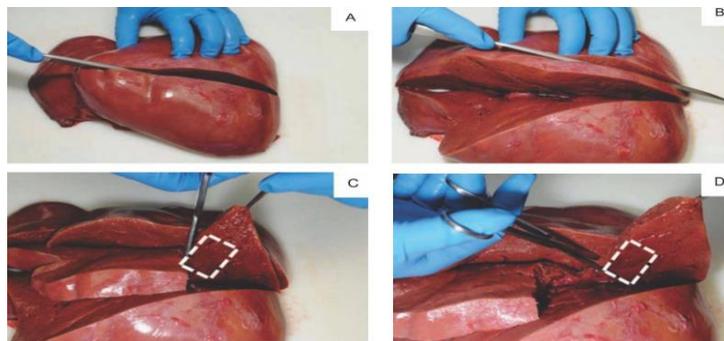


Figure 7:prélèvement hépatique à partir du lobe droit.

- **Rein :**

Cet échantillon est recueilli pour les métaux lourds qui ont tendance à se concentrer au niveau rénal ou pour l'analyse de l'éthylène glycol. Le tissu rénal est particulièrement important dans le cas où les urines sont absentes [137]. Le prélèvement rénal est utilisé pour l'analyse qualitative seulement.

- **Cœur :**

Cet échantillon n'est pas très utile sauf dans le cas de l'intoxication à la digitaline avec une utilité dans l'analyse qualitative seulement [137].Le prélèvement s'effectue à partir du ventricule gauche.

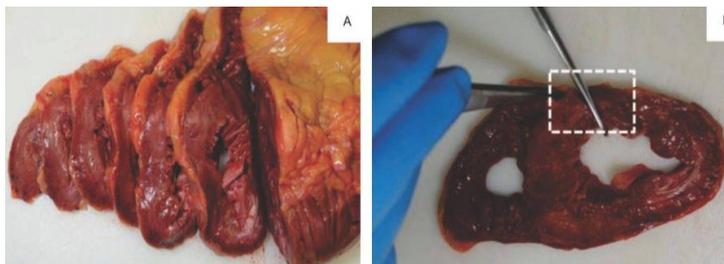


Figure 8:prélèvement cardiaque à partir du ventricule gauche

- Os :

Le prélèvement s'effectue sur des restes squelettiques qui doivent être coupés en petits morceaux (exemple : anneaux de fémur) ou écrasés. Il n'existe aucune donnée suggérant qu'une région anatomique est meilleure qu'une autre. Les os plus gros (exemple : fémur) sont certainement plus faciles à travailler que les os plus petits[138].

-Cet échantillon est utile seulement en analyse qualitative.

- Moelle osseuse :

La moelle osseuse est protégée par les os ce qui la rend utile pour les analyses lors des stades avancés de la putréfaction. Elle a un degré élevé de vascularisation et de teneur en lipides, chose qui peut permettre l'accumulation des xénobiotiques lipophiles. La corrélation avec les concentrations sanguines est difficile. Cet échantillon est utilisé pour l'analyse qualitative seule.

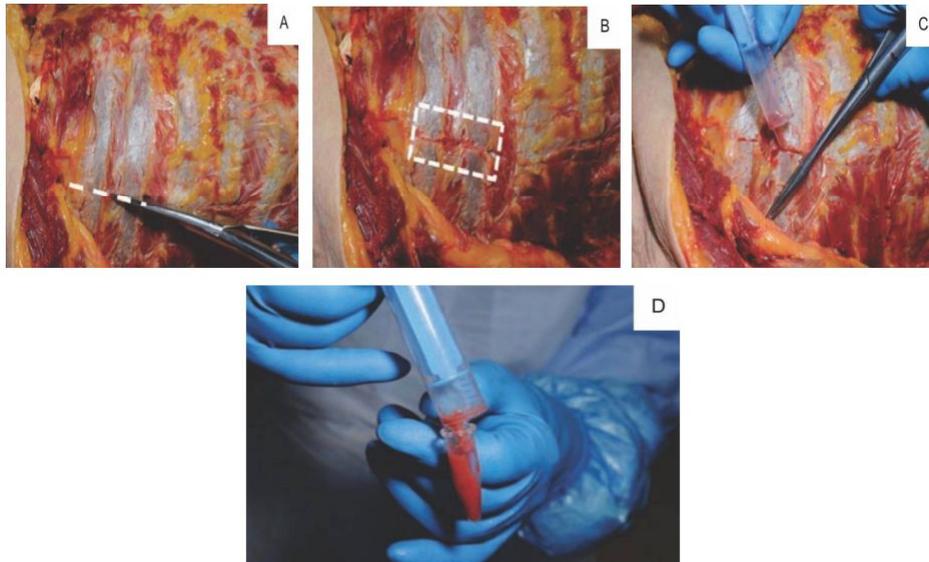


Figure 9: Etapes de prélèvement de la moelle osseuse.

- Muscle squelettique :

Le muscle squelettique : disponible en grandes quantités, est utile dans les cas de décomposition avancée puisqu'il est résistant à l'autolyse. Il permet l'analyse qualitative seulement. Le muscle squelettique est normalement prélevé dans la partie lombaire droite ou gauche du muscle ilio-psoas.

III.1.2. Conditionnement

Les types de kits utilisés par les établissements médico-légaux varient considérablement. Quel que soit le format utilisé, il est essentiel que les récipients d'échantillonnage nécessaires soient bien étiquetés. Ainsi il est important de respecter les conditions suivantes [125; 139-142] :

- Les contenants doivent être neufs, de préférence, rincés à l'eau distillée et stérilisés avant utilisation, à moins que le fabricant déclare que ce n'est pas nécessaire [125 ; 139-142].
- Des récipients séparés doivent être utilisés pour loger différents échantillons et le plastique (en particulier le polypropylène) avec des bouchons à vis est utile dans la plupart des cas car il ne se casse pas, surtout lors de la congélation. Si des xénobiotiques volatiles (abus de solvants ou intoxication aux cyanures ou monoxyde de carbone) doivent être analysés, les échantillons doivent être prélevés rapidement, des contenants en verre peuvent être utilisés et doivent être scellés avec du polytétrafluoroéthylène (Téflon®) . Les couvercles revêtus de feuilles d'aluminium sont préférables pour éviter des pertes plus importantes par diffusion enregistrée dans des contenants en plastique[125 ; 139-142].
- Les contenants doivent être remplis (mais pas d'une façon abusive) pour minimiser l'espace libre et les pertes dues à l'évaporation (les volatiles comme l'éthanol) [125 ; 139-142].
- Les contenants doivent être ouverts au moment de l'analyse et seulement lorsqu'ils sont refroidis à 4 °C [125 ; 139-142].
- Des étiquettes inviolables adhésives devraient être superposées sur les couvercles des contenants pour s'assurer que les échantillons n'ont pas été falsifiés.
- Au minimum, l'étiquette devrait comprendre les renseignements suivants : numéro d'identification de l'établissement ou numéro de demande; nom de la victime ; type d'échantillon (sang, foie, rein) et lieu anatomique du prélèvement sanguin, le cas échéant (exemple : sang cardiaque ou sang fémoral); signature de l'examineur; date et heure du prélèvement [125].
- Un rapport sur la chaîne de possession doit être rempli et signé pour démontrer l'intégrité de l'échantillon.
- Les formulaires de demande toxicologique doivent être remplis de la manière la plus complète possible, être placés avec des échantillons à l'intérieur de sacs opaques en plastique scellés et soumis au laboratoire pour analyse.

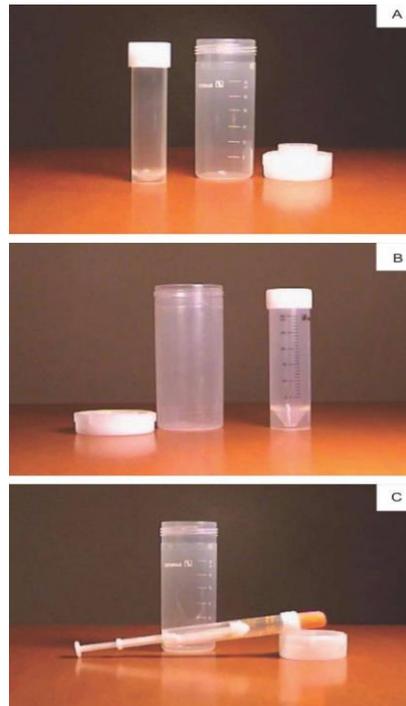


Figure 10:différents contenants peuvent être utilisés

III.1.3. Conservation et stockage

Les altérations post-mortem putréfactions qui se produisent dans le corps sont influencées par plusieurs variables et peuvent influencer considérablement les concentrations obtenues pour plusieurs analytes (exemple : les concentrations d'éthanol dans le sang peuvent augmenter ou diminuer). Bien que ces conséquences soient presque incontrôlables, d'autres altérations des concentrations de xénobiotiques dues à une conservation et un stockage in vitro incorrects sont moins tolérées. Par conséquent, il ne faut pas négliger la conservation des échantillons et les conditions physiques (exemple :la température) pendant l'entreposage, car des modifications des concentrations de divers analytes peuvent survenir in vitro. Il est indispensable de respecter les conditions et les procédures générales pour la conservation et le stockage des échantillons [120] [125] [139] :

- Les échantillons doivent être entreposés dans des contenants hermétiques à 4 °C (court terme) ou à - 20 °C ou de préférence à - 80 °C (long terme).
- Les exceptions comprennent les cheveux et les ongles, qui sont stables à la température ambiante.
- Si du plasma ou du sérum sont nécessaires pour l'analyse, ceux-ci sont séparés avant la congélation du sang.

- L'utilisation du fluorure de sodium (ou de potassium) comme conservateur dans le sang avec une concentration finale de 1 % à 5 % en poids est obligatoire pour le sang périphérique et facultative pour d'autres échantillons de sang (exemple : caillots sanguins et sang provenant de cavités thoraciques ou abdominales). Il existe des preuves claires de l'importance des agents de conservation pour plusieurs analytes comme les opioïdes, l'éthanol, la cocaïne, le cyanure, l'acide γ hydroxybutyrique .

Tableau IV : Les différents prélèvements autopsiques

Matrices	Recueil	Volume	Cotenant	Conservation
Sang périphérique	Iliaque/fémoral	10mL dont 5mL sur NaF	Flacon verre ou plastique et tube NaF	Congélateur
Sang cardiaque	Intra cardiaque	10mL	Flacon verre /plastique	Congélateur
Urines	Ponction vésicale	5–10 mL	Flacon verre /plastique	Congélateur
Contenu gastrique	À la cuiller	5–10 mL	Flacon plastique	Congélateur
	Isolement des débris	Tous les restes de comprimés ou gélules	Flacon plastique	Congélateur
Cheveux	Coupés au ras du cuir chevelu en Vertex postérieur	1 mèche orientée	Enveloppe ou flacon-plastique	Température ambiante
Humeur vitrée	Seringue	Totalité (1–2mL)	Tube plastique	Congélateur
Bile	Seringue	Totalité (1–10mL)	Tube plastique	Congélateur
Viscères: Foie, rein, cœur, poumon, cerveau	Un bout de l'organe et non l'organe entier	10–20g	Tube plastique	Congélateur
Liquide de putréfaction	Abdomen ou gouttières pleurales	10mL	Flacon verre /plastique	Congélateur
Prélèvements nasopharyngés	En début d'autopsie	1 écouvillon par narine	Écouvillon	Congélateur
Larves, insectes	Si corps putréfié	5–10g d'insectes	Tube plastique	Congélateur
Os	Si uniquement squelette	Os plat	Tube plastique	Congélateur

III.1.4. Prétraitement de l'échantillon

Cette étape est essentielle dans les investigations toxicologiques et particulièrement en sciences médico-légales en raison de l'impact du résultat des analyses sur la procédure judiciaire. Il faut élaborer des résultats fiables et valides pour une bonne interprétation qui va mener à la résolution d'une affaire de droit, pour ceci l'étape de prétraitement et d'extraction de l'échantillon est primordiale pour éviter les interférences avec plusieurs substances, exemple : protéines, sels, bases, acides et autres composés organiques. De nos jours plusieurs méthodes sont utilisées.

Les échantillons comparables à une solution purement aqueuse (comme l'urine) ne nécessitent qu'un minimum de prétraitement comme la dilution et la centrifugation avant l'extraction. Les spécimens biologiques qui contiennent des protéines comme le sang, l'humeur vitrée, et le liquide céphalorachidien, nécessitent une attention particulière et souvent un prétraitement intensif comme la précipitation protéique supplémentaire avant l'extraction. Celle-ci comporte le risque d'adsorption et d'occlusion des composés cibles, ce qui entraîne de faibles taux de récupération et dans le pire des cas, l'incapacité de détecter les composés recherchés. Dans tous les cas où l'homogénéité des spécimens est douteuse (ceci est vrai pour presque tous les échantillons post-mortem) et dans le cas des échantillons solides (tels que les tissus), l'homogénéisation avec un mélangeur ou avec des ciseaux (suivis d'une digestion enzymatique/protéolytique avec trypsine ou autres peptidases et filtration ultérieure pour l'élimination des résidus bruts) est nécessaire avant tout prétraitement et extraction ultérieurs.

III.1.4.1. L'hydrolyse :

Pour une bonne détection de la substance et des métabolites de la phase I, l'hydrolyse est nécessaire, cette procédure est fréquemment appliquée aux urines. L'hydrolyse peut être effectuée dans un milieu acide ou basique fort. L'incubation à 100°C accélère l'hydrolyse et produit un clivage presque complet. Les procédures standards utilisent de l'acide chlorhydrique à 37 % pendant 15 minutes à 100°C. Lorsque le temps est un facteur limitatif, ce type d'hydrolyse est souvent préféré. Cependant, l'inconvénient est la destruction de composés sensibles à des conditions acides ou alcalines fortes, tels que les benzodiazépines, la cocaïne, les opiacés acétylés, etc. Par conséquent, l'application d'acides forts ou de bases fortes pour l'hydrolyse devrait être limitée aux cas d'urgence, où des résultats rapides sont essentiels[143].

III.1.4.2. Extraction liquide-liquide :

Cette extraction est recommandée comme procédure rapide, peu coûteuse et efficace. Elle fonctionne particulièrement bien avec les fluides biologiques à très faible teneur en protéines. L'extraction doit être effectuée à différentes valeurs de pH (exemple : pH 2 à 3 et pH 8 à 9) et le pH de l'échantillon doit être strictement contrôlé, un ajustement avec des solutions tampons est recommandé [143] :

- Tampon acide (comme le dihydrogénophosphate de sodium)

- Tampon faiblement basique (comme le carbonate d'hydrogène de sodium), (pour les amphotères, comme la morphine, la phase basique ne doit pas dépasser un pH de 9)
- La saturation avec des sels neutres est recommandée (exemple : NaCl)
- Un rapport de phase (organique/aqueuse) d'un à deux devrait être l'objectif afin d'éviter la co-extraction d'une grande quantité d'interférences.

III.1.4.3. Extraction en phase solide :

Cette extraction peut être utilisée comme une alternative à l'extraction liquide-liquide, en particulier lorsque les échantillons contenant des quantités élevées de protéines doivent être extraits, ou l'automatisation de l'ensemble du processus d'extraction est nécessaire. L'extraction en phase solide a été appliquée avec succès dans la toxicologie post mortem pour extraire les fluides corporels et les tissus, lorsque la dilution appropriée des échantillons a été utilisée [143].

L'extraction en phase solide offre un rendement d'extraction élevé, qui s'adapte à de plus petites tailles d'échantillons, réduisant ainsi la consommation du solvant. Les analytes sont isolés de l'échantillon aqueux sur un adsorbant solide ; l'adsorbant doit présenter un minimum de sélectivité [144].

III.2. Phase analytique :

III.2.1. Méthodes d'orientation

III.2.1.1. Réactions colorées d'orientation:

Ce type de test expose la substance à un produit chimique ou un ensemble de produits chimiques qui vont contribuer à la coloration du xénobiotique recherché. Le tableau 5 résume les différentes réactions colorées utilisées [146].

Tableau V: Exemples de réactions colorées d'orientation

Réactif ou test utilisé	Coloration	Toxique identifié
Trinder	Violette	Salicylés
Forest	Rose ou violette	Phénothiazines
H ₂ SO ₄	Orange	Amitriptyline
Diazocoppulation	Violette	BZD

III.2.1.2. Tests immunochimiques:

Il s'agit de méthodes rapides et simples permettant le traitement de grandes séries d'échantillons. Si l'intérêt de l'immuno-analyse n'est plus à démontrer, dans le domaine médico-judiciaire, 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 [145-149].

L'immuno-analyse est un ensemble de techniques diverses qui regroupe des méthodes utilisant la réaction entre un antigène (molécule ou famille chimique cible : médicaments, stupéfiants) et un anticorps afin de détecter et/ou quantifier la présence d'une molécule (ou famille de molécules) dans un milieu biologique. En fonction de l'existence ou non d'une étape de séparation des formes liées à l'anticorps et libres de l'antigène [145-149] :

Tests radio-immunologiques :

Ces tests sont basés sur la compétition d'un xénobiotique dans un spécimen avec un composé radioactif pour les sites de liaison à un anticorps spécifique, qui avait été préparé préalablement. La sensibilité de ce test est généralement très élevée avec des limites de détection à des niveaux de pg à ng [150-151]. En RIA, il y a compétition vis-à-vis d'un anticorps spécifique entre une molécule présente dans l'échantillon à analyser et la même molécule marquée par un radioélément. En pratique, les radio-isotopes les plus utilisés sont l'iode 125 (^{125}I) et le tritium (^3H). Deux méthodes sont couramment employées pour la séparation des formes libres et liées de l'antigène, soit en utilisant une phase solide revêtue de l'anticorps, soit par précipitation des complexes antigène-anticorps à l'aide d'un second anticorps. Les radio-immuno dosages présentent une très bonne sensibilité et un effet matrice relativement faible. Ces techniques ont donc été exploitées pour doser des molécules actives à très faible concentration comme la buprénorphine . Cependant, elles nécessitent l'utilisation de produits radioactifs avec des contraintes spécifiques (agréments, équipements spécifiques, élimination des déchets) et sont peu automatisées. Ces techniques sont donc progressivement remplacées par des techniques non radio-isotopiques dites «froides».

Tests immunoenzymatiques :

Ces tests sont couramment utilisés pour le dépistage des toxines fongiques dans les denrées et les aliments. Le principe de base est le même que celui des tests radio-immunologiques. ELISA utilise une enzyme comme marqueur à la place des radio-isotopes. Les tests peuvent être effectués dans n'importe quel laboratoire sans licence pour les composés radioactifs [152-155]. Quant à l'EMIT (Enzyme Multiplied Immunoassay Technique) elle repose sur la compétition vis-à-vis d'un anticorps spécifique entre la molécule d'intérêt (ou molécule de même famille) présente dans l'échantillon à analyser et la même molécule conjuguée à une enzyme. La liaison à l'anticorps inhibe l'activité enzymatique de la molécule marquée. En

présence de quantités croissantes d'analyte dans l'échantillon, l'activité enzymatique est restaurée.

III.2.2. Méthodes de confirmation

Les tests de dépistage doivent être sensibles tandis que les tests de confirmations doivent être spécifiques. Afin de rendre des résultats fiables permettant d'élaborer une conclusion à propos du dossier étudié il faut avoir recours à des techniques chromatographiques qui ont démontré leur utilité dans les investigations toxicologiques[157].

III.2.2.1. Chromatographie sur couche mince (CCM) :

La CCM est une méthode de chromatographie dans laquelle une couche mince faite de gel de silice, d'alumine, de florisol ou de cellulose est enduite sur des plaques de verre ou d'aluminium. Plusieurs types de CCM prêt à l'emploi sans avoir besoin de prétraitements sont disponibles. Cette méthode consiste à placer sur une couche mince une tache de la substance et de la laisser éluer en la trempant dans un solvant ou un mélange de solvant (appelé éluant), l'éluant diffuse le long du support. La tache migre sur la feuille plus ou moins vite selon la nature des interactions qu'elle subit de la part du support et de l'éluant. Lors de la migration, un composé repéré se déplace à une certaine vitesse vers le sommet. Le mouvement d'un composé à analyser est habituellement exprimé par les valeurs du facteur de rétention (R_f). Ce nombre représente la distance parcourue par un composé dans un solvant particulier. Elle est déterminée en mesurant la distance parcourue par le composé et en la divisant par la distance parcourue par le solvant[145].

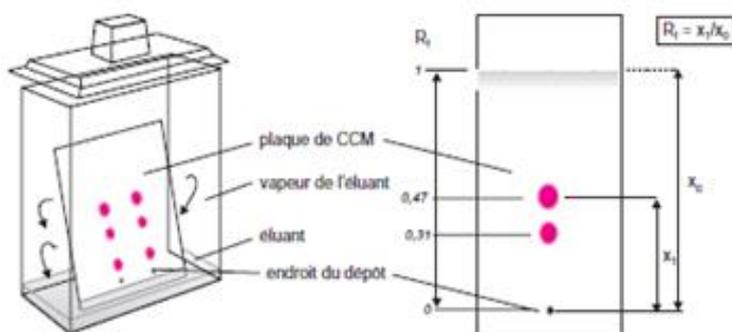


Figure 11: schéma d'une chromatographie sur couche mince

III.2.2.2. Chromatographie liquide haute performance (HPLC) :

Le principe de cette technique repose sur la dissolution des substances dans une phase mobile liquide, qui est ensuite passée à travers une phase stationnaire dans une colonne permettant de séparer et d'isoler les constituants de l'échantillon. Le temps nécessaire pour

traverser la colonne est enregistré par un détecteur permettant ainsi de détecter chaque composant de l'échantillon. L'HPLC comporte principalement trois étapes [138] [158–159] :

1. Injection de l'échantillon : l'échantillon est injecté dans la colonne sous haute pression.
2. Temps de rétention : Le temps nécessaire pour chaque composé pour se déplacer à travers la colonne vers le détecteur est nommé : temps de rétention. Le temps de rétention dépend de divers facteurs comme la pression dans la colonne, la taille des particules, la nature de la phase stationnaire ; la composition du solvant utilisé dans la colonne et la température.
3. La détection : Plusieurs détecteurs peuvent être utilisés pour la détection de la substance qui a traversé la colonne.

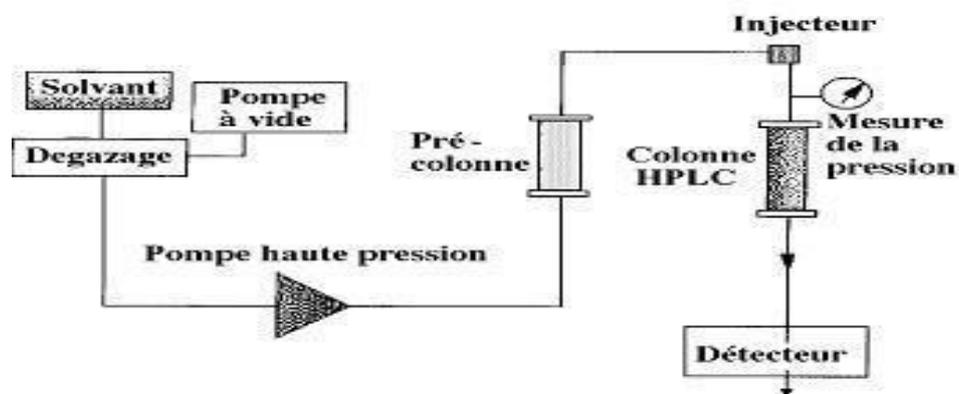


Figure 12: principe de fonctionnement HPLC.[160]

III.2.2.3. Chromatographie en phase gazeuse (CPG) :

Le principe de cette méthode est basé sur l'interaction des composés et la phase stationnaire, le balayage de la colonne par le gaz vecteur (azote, hydrogène ou hélium) à des températures relativement élevées entraîne les composés vers le détecteur[161].

-L'identification se fait avec un détecteur d'ionisation de flamme ou un détecteur d'azote, La CPG couplée à la spectrométrie de masse est la plus utilisée comme test de confirmation dans la toxicologie médico-légale[145].Le tableau VI résume les différents types de détecteurs utilisés dans la CPG[162].

Tableau VI: différents types de détecteur.

Type de détecteur :	Application :
Spectromètre de masse (SM)	Universelle
Ionisation de flamme	Hydrocarbures
Conductivité thermique	Universelle
Capture d'électrons	Hydrocarbures/Halogénés
Photométrie de flamme	composés contenant du soufre et du phosphore
Chimiluminescence	Sulfur
Photoionisation	Composés ionisables

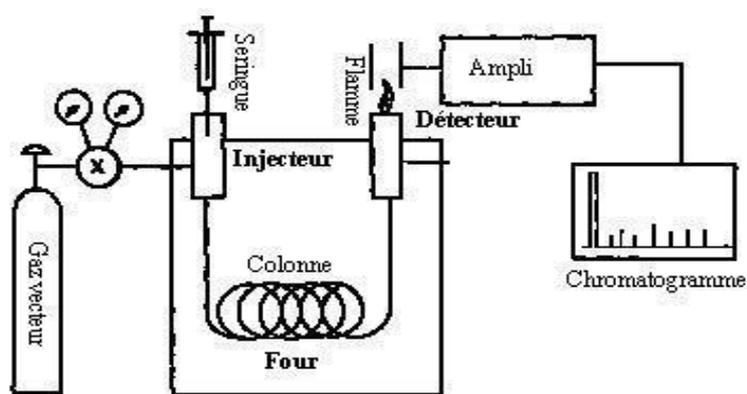


Figure 13: schéma simplifié de l'appareillage de la CPG [163].

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 [164]. Elle a également permis le dosage du THC et ses métabolites dans le sang total et le sérum [165, 166], le dosage de dioxines [167, 168] et dans le cadre des contrôles antidopage [169].

III.2.2.4. Électrophorèse capillaire (EC) :

L'électrophorèse capillaire est une technique analytique qui sépare les ions en fonction de leur mobilité électrophorétique en appliquant une tension. La mobilité électrophorétique dépend de la charge de la molécule, de la viscosité et du rayon de l'atome. La vitesse avec laquelle la particule se déplace est directement proportionnelle au champ électrique appliqué : plus la force du champ est grande, plus la mobilité est rapide. Les espèces neutres ne sont pas affectées, seuls les ions se déplacent avec le champ électrique. Si deux ions sont de la même taille, celui avec une plus grande charge se déplacera plus rapidement. Pour les ions de la même charge, la plus petite particule a moins de friction et un taux de migration [170]. Les détecteurs utilisés en EC sont : le spectromètre UV-Vis et à fluorescence, le PED et le spectromètre de masse [172]. L'électrophorèse capillaire est utilisée dans le domaine médico-

légal comme le prouvent les toutes récentes publications rapportant les dosages de stupéfiants [172–174], de la metformine [175], d'antidépresseurs [176] et du paraquat[177] en lui couplant le plus couramment une détection par spectrométrie de masse.

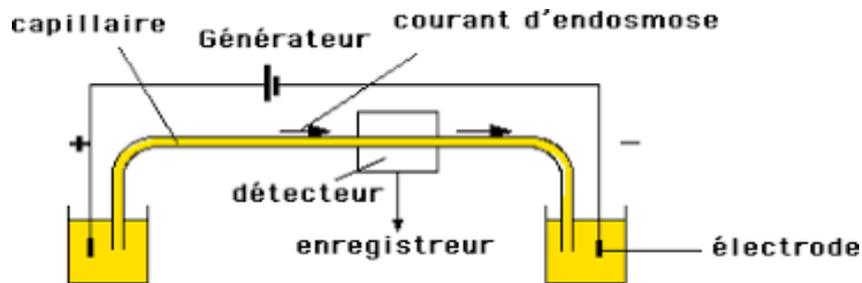


Figure 14:schéma illustrant le fonctionnement de l'EC[178].

III.2.2.5. Spectrométrie d'absorption atomique (SAA) :

La spectrométrie d'absorption atomique est l'une des méthodes les plus efficaces pour des applications diverses tel que l'analyse des résidus de poudre et les enquêtes toxicologiques dans les cas soupçonnés d'empoisonnements aux métaux comme par exemple la détection de l'arsenic dans les cheveux de la victime [179].

La SAA est une méthode qui permet de détecter la présence d'un xénobiotique dans un échantillon donné ainsi que de déterminer sa concentration. Celle-ci est définie en testant la quantité de lumière absorbée par les ions libres dans l'échantillon. En exposant un échantillon à la lumière à une longueur d'onde spécifique et en suivant la quantité de cette lumière qui est absorbée par l'échantillon, la détection du xénobiotique en déterminant sa concentration est possible. La SAA peut détecter environ 70 éléments différents [180].

III.2.2.6. Spectrométrie-UV :

Cette méthode utilise des spectrophotomètres modernes qui sont rapides, précis et fiables et n'exige pas beaucoup de temps pour l'application, cependant elle manque de sensibilité et de spécificité. Elle n'est pas couramment utilisée sauf pour la détermination de la carboxyhémoglobine. Historiquement elle était utilisée pour les barbituriques et les salicylates. Lors de l'analyse, l'échantillon est traversé par un rayonnement lumineux de longueur d'onde allant de 100-800 nm. Les photons issus du rayonnement transfèrent aux composés analysés une énergie qui excite les molécules, atomes ou ions traversés, ainsi une partie du rayonnement incident est absorbée. L'étude du rayonnement après passage à travers la substance analysée permet d'obtenir des informations sur sa nature [156].



**PARTIE PRATIQUE : INSTALLATION DE L'UNITÉ DE
TOXICOLOGIE MÉDICOLÉGALE**

I. Présentation du travail

I.1. Type, Lieu et période de l'étude :

Cette étude descriptive a été réalisée au sein du service de la toxicologie du centre hospitalo-universitaire Dr.Tidjani Damerdji –Tlemcen sur une période allant du septembre 04 septembre 2022 au 1 juillet 2023

I.2. Objectifs de l'étude :

I.2.1. Objectif principal :

L'objectif principal de notre mémoire est l'installation de l'unité de toxicologie forensique du service de toxicologie CHU Tlemcen. Cette installation requiert principalement la mise au point des techniques d'analyses qualitative et quantitative des différents types de toxiques :

- Dosage de l'alcool par la méthode de Cordebard.
- Dosage de CO par la méthode de WOLFF.
- Identification et/ou dosage des stupéfiants.
- Préparation des fiches techniques de recherche et de dosage de toxiques

I.2.2. Objectifs secondaires :

Les Objectifs secondaires de ce travail consistent à :

- numériser les différents prélèvements effectués lors d'une autopsie au niveau de service de médecine légale CHU Tlemcen
- Recherche de psychotropes et de certaines drogues chez certains cas.

I.3. But de l'étude :

Le but de notre étude est de présenter l'activité de routine de l'unité de toxicologie forensique

II. Description du service de toxicologie

II.1. Création du service de toxicologie CHU de Tlemcen :

Le service de toxicologie est installé Selon l'arrêté interministériel N° 004 / 09 Janvier 2014 ; portant sur la création et /ou la Régularisation des services au CHU Tlemcen. Ce service est composé de trois unités :

- ◆ Unité d'urgence
- ◆ Unité médico-légale
- ◆ Unité professionnelle

II.1.1. Unité de toxicologie d'urgence :

Cette unité a pour mission :

- Identifier et doser diverses substances (Médicaments, produits chimiques) dans les cas d'intoxications aiguës.
- De suivre l'évolution de ces cas.
- D'effectuer un suivi thérapeutique chez les malades chroniques par un dosage des médicaments dans les milieux biologiques.

II.1.2. Unité de toxicologie professionnelle :

L'unité de toxicologie professionnelle s'intéresse à la surveillance biotoxicologique des travailleurs exposés aux différents types de toxique sur leurs lieux de travail. Comme par exemple : l'évaluation de la méthémoglobinémie chez les travailleurs exposés aux agents méthémoglobinisants.

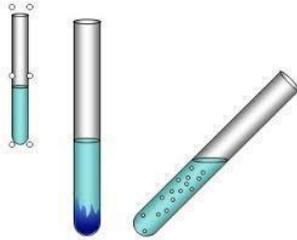
II.1.3. Unité de toxicologie médico –légale :

L'unité de la toxicologie médico-légale est une unité essentielle dans le service de toxicologie et qu'est aussi une unité complémentaire à la médecine légale dans le cadre d'une enquête judiciaire. Tentative d'empoisonnement, soumission chimique ou tentative d'autolyse sont autant de contextes dont la conclusion médico-légale, qu'elle soit affirmative ou non, oriente les enquêteurs. En effet, la capacité expertale de la toxicologie s'appuie sur une grande variété de techniques analytiques. Des dépistages larges de diverses substances comme les médicaments, les stupéfiants ou encore les psychotropes sont réalisés à partir de matrices biologiques variées. Si les prélèvements sanguins ou urinaires sont les plus fréquemment

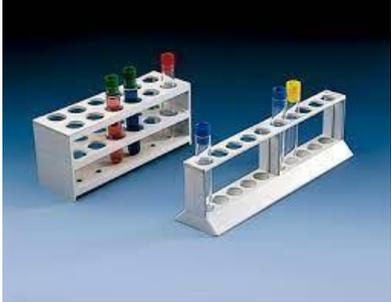
rencontrés, l'analyse à partir de plusieurs autres matrices est parfois effectuée (muscles, liquides gastriques, seringues, boissons,).

III. Établissement de l'état de Besoin de l'unité :

III.1. En Matériels et équipements

Equipements	Description
Béchers	
Tube à essais	
Eprouvette graduée	
Burette graduée	

Erlenmeyer	
Chauffe ballon	
Fiole jaugée	
Réfrigérant	
Pipette graduée	

Pissette d'eau distillée	
Entonnoir	
Porte de tube à essais	
micro centrifugeuse	
Agitateur	

pH mètre	
Bain marie	
Balance	
Capsule	
Ampoule graduée	

III.2. En Réactifs :

III.2.1. La méthode de Cordebard:

A) Solution saturé d'acide picrique (15 g/l) :

- Acide picrique 15g
- Eau distillé 800 ml

B) Solution d'iodure de potassium préparée extemporanément :

- Iodure de potassium KI 1g
- Eau distillée 1 litre

C) Solution du thiosulfate de sodium 0,05 N :

- Thiosulfate de sodium $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 7g
- Chlorure de sodium NaCl 100 g
- Bromure de sodium NaBr 0,5 g
- Eau distillée 500 ml

D) Solution nitro chromic 0,05 N :

- Bichromate de potassium 1,22 g
- Acide nitrique (d=1,38) 500 ml

III.2.2. La méthode de Wolff :

a) -Solution aqueuse d'acide acétique 5N :

- Acide acétique 300g
Eau distillée q.s.p 1000ml

b) -Solution aqueuse d'acétate de sodium 3M :

- Acétate de sodium $3\text{H}_2\text{O}$ 408g
Eau distillée q.s.p 1000ml

c) -Au moment du dosage, préparer la solution tampon de WOLFF (pH=5) de la façon suivante :

- Solution d'acide acétique 5N 1 volume
Solution d'acétate de sodium 3M .3 volumes

III.2.3. Recherche des benzodiazépines :

- Acide chlorhydrique 6N.

- Nitrite de sodium.
- Sulfamates d'ammonium.
- Réactif de Tréfouël (Solution aqueuse de chlorhydrate de N-alpha-
- Naphtyl N, N diéthylamine à 0,1%

III.2.4. Identification des phénothiazines et imipramines par réactions colorée

- Dichlorométhane.
- Solution aqueuse de NaOH à 40 g pour 100 ml.
- Acide phosphorique., Benzoparaquinone.

III.2.5. Caractérisation de l'Amitriptyline par une réaction colorée :

- Dichlorométhane.
- Solution aqueuse de NaOH à 40 g pour 100 ml.
- Acide sulfurique pur (d=1,83).

III.2.6. Recherche Des Salicylés Par Le Réactif De Trinder :

- Réactif de Trinder (stable indéfiniment).

Chlorure mercurique	40g
Eau distillée	850 ml

-Chauffer pour dissoudre. Après refroidissements, ajouter :

Nitrate ferrique (NO ₃) ₃ Fe, 9H ₂ O	40g
HCl 1N	120 ml

- Solution aqueuse étalon d'acide salicylique 250 mg /l :

Salicylate de sodium anhydre	0.25g
Eau distillée	1l

IV. Précaution lors de la manipulation :

IV.1. Précautions À Prendre Impérativement Lors De La Manipulation Des Solvants :

Avant toute utilisation se reporter à l'étiquette portée sur le flacon et lire attentivement la fiche de sécurité et en respecter les consignes. L'étiquetage est la première information,

essentielle et concise, fournie à l'utilisateur sur les dangers des produits et sur les précautions à prendre lors de l'utilisation. Il est indispensable de lire systématiquement les étiquettes présentes sur les récipients contenant les produits. Vous trouverez les symboles des dangers liés à la manipulation des produits dangereux comme celui ci :

	SIGNIFICATION	CONSIGNES DE SECURITE
	<i>T Toxique</i> <i>T+ Très toxique</i>	Ne pas ingérer, inhaler. Aucun contact avec la peau . Suivre les indications R.
	<i>E Explosif</i>	Manipuler loin de toute source de chaleur . Eviter chocs et frottements .
	<i>C Corrosif</i>	Se protéger les yeux (lunettes), la peau et les vêtements (blouse manches longues). Ne pas inhaler. Suivre les indications S.
	<i>X_n Toxicité moindre</i> <i>X_i Irritant</i>	<i>X_n</i> : Ne pas ingérer, inhaler - Aucun contact avec la peau - Suivre les indications R . <i>X_i</i> : Se protéger les yeux, la peau et les vêtements - Ne pas inhaler - en cas de projection, laver à grandes eaux .
	<i>Dangereux pour l'environnement</i>	Ne pas rincer dans l'évier mais dans un flacon de récupération pour le recyclage ou le traitement des déchets dangereux .
	<i>Facilement inflammable</i>	Manipuler loin de toute source de chaleur Tenir à l'écart des comburants .
	<i>Comburant</i>	Manipuler loin de toute source de chaleur Tenir à l'écart des combustibles.



Figure 15: des pictogrammes représente les précautions à prendre lors de la manipulation

Les consignes suivantes doivent être respectées :

- Ne jamais transvaser un solvant dans un flacon ayant contenu un autre produit chimique.
- Éviter tout déversement vers l'égout.
- Ne pas exercer de pression sur les parois des emballages, ne pas faire rouler les fûts pleins.
- Limiter les pertes dues à l'évaporation (flacons ouverts etc.).
- Se laver les mains fréquemment avec un savon doux, en particulier avant de manger ou de boire.
- Ne jamais se laver les mains avec un solvant.
- Ne pas boire, manger ni fumer dans les locaux où sont utilisés les solvants.
- Ranger ses vêtements de travail et ses vêtements de ville dans des vestiaires séparés.
- Dans les lieux où sont utilisés les solvants, il est recommandé de :
- Entreposer des quantités de produits relativement faibles et ne dépassant pas celles nécessaires au travail d'une journée.
- Effectuer en appareil clos toute opération qui s'y prête.
- Conserver les déchets dans des récipients spécialement prévus à cet effet.
- En cas de fuite ou de déversement accidentel, récupérer immédiatement les produits après les avoir recouverts de matériau absorbant inerte (sciure...) dont on maintient une réserve à disposition. Si le déversement est important, supprimer toute source

potentielle de combustion, aérer la zone, évacuer le personnel en ne faisant intervenir que des opérateurs entraînés munis d'équipements de protection appropriés.

IV.2. Stockage Des Solvants :

Les récipients destinés à recevoir des solvants doivent être tenus soigneusement fermés en dehors des moments où ils sont utilisés. Chaque récipient doit être correctement étiqueté : il faut veiller à reproduire l'étiquette à chaque fractionnement.

Les locaux qui reçoivent les containers de solvants doivent respecter certaines mesures préventives :

- Les locaux doivent être frais et efficacement ventilés, à l'abri de toute source de chaleur ou d'ignition (rayons du soleil, flammes, étincelles...).
- Le sol doit être incombustible, imperméable et former une cuvette de rétention, afin qu'en cas de déversement accidentel le liquide ne puisse pas se répandre au dehors.
- Le matériel électrique utilisé doit être adapté au risque d'explosion : il doit être tenu en conformité avec la réglementation.
- Des extincteurs, une douche et un lave-œil de sécurité doivent être installés à proximité.
- Les voies de circulation doivent être suffisamment larges pour le passage des personnes et/ou des engins de manutention.
- Les issues de secours doivent être dégagées et signalées.

Pour stocker des conteneurs de solvant en toute sécurité, il est recommandé de :

- Séparer physiquement les produits incompatibles.
- Stocker les emballages pleins et debout.
- Ne pas empiler sur plus de 2 hauteurs.
- Interdire de fumer.

Enfin, le personnel qui travaille dans ces locaux doit être tenu informé des risques présentés par les produits, des précautions à observer et des mesures à prendre en cas d'acciden

V. Mise au point des techniques analytiques

V. 1. Etape pré –analytiques

V.1.1. Les différentes fiches d'analyses :

Le recueil des informations a été réalisé à l'aide d'une fiche de renseignement, remplis par les médecins prescripteurs de l'analyse toxicologique et travaillant au niveau des différents services du CHU Tlemcen « Dr. Tidjani Darmadji ».

Cette fiche fournit des données sur l'identité du patient, le type de prélèvement, les produits suspectés ingérés, type et circonstance d'exposition, des informations sur la symptomatologie présentée, les traitements reçus, ainsi que les différents examens et analyses demandées.

La fiche de renseignement est sous forme d'un formulaire organisé en volets (patients, prélèvements, produits,...) qui permet un remplissage rapide (annexe ...).

Il est mentionné dans les fiches :

La répartition dans le temps (date et heure de prélèvement) ;

- Service et nom de médecin requérant
- Volet patient intoxiqué (nom, prénom, âge, sexe, adresse, numéro de téléphone, et sa profession)
- Volet prélèvement (sang, urines, contenu gastrique, liquide de lavage gastrique, ou autre prélèvement)
- Volet produit (nom du produit si il est connu, le délai entre la prise et le prélèvement, la voie d'administration, et la quantité)
- Volet exposition au produit (unique, brève, prolongé, répétée, et le lieu de l'exposition)
- Volet circonstance de l'intoxication (accidentelle ou volontaire)
- Volet de la symptomatologie
- Volet prise en charge (traitement, examens complémentaire)

V.1.2. Choix du milieu biologiques post mortem et sur le vivant :

La toxicologie médico –légale souvent présentée comme l'examen complémentaire apportant le plus de valeur ajoutée pour la détermination des causes de décès, et elle permet d'identifier une seule prise d'un produit sur un prélèvement souvent présentée comme l'examen complémentaire apportant le plus de valeur ajoutée pour la détermination des causes de décès, et elle permet d'identifier une seule prise d'un produit sur un prélèvement.

La qualité des prélèvements est donc essentielle, que ceux-ci soient effectués en *post mortem* ou chez le vivant.

V.1.2.1. Prélèvements effectués lors de l'autopsie :

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) et enfin les cheveux.

Tout médecin légiste travaillant dans un cadre médico-légal doit effectuer ces prélèvements quelle que soit l'origine présumée du décès.

À côté de ces prélèvements obligatoires, existent des prélèvements facultatifs ou alternatifs comme 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.

Les différents prélèvements doivent être parfaitement identifiés par le médecin légiste pour le toxicologue qui aura à les analyser. Comme on le verra plus loin, le sang périphérique et le sang cardiaque n'ont pas la même utilité analytique. Pourtant, il est totalement impossible de distinguer ces deux matrices dans un tube si elles n'ont pas été clairement identifiées lors du prélèvement.

L'étiquetage des prélèvements est donc 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, Ou S'ils Sont Inconnus Un Moyen De Différencier Les Différents Inconnus Parfois Retrouvés Dans Une Même Journée, Un Moyen Simple Est D'affecter Une Lettre Au Sujet, Par Exemple X, Suivi Du Nom De La Ville Dans Laquelle Il A Été Retrouvé
- Le Nom Du Médecin Ayant Praticqué L'autopsie
- Le Type de Prélèvement.

V.1.2.2. Prélèvements effectué chez le vivant :

Contexte	Prélèvement	
Sécurité routière	Urine	10 ml dans un flacon plastique sans conservateur
	Salive	Recueil par écouvillon badigeonné dans cavité buccale
	Sang	2×5 ml sur NaF 2×7 ou 2×10 ml sur tube héparinate de sodium
	Cheveux	1-2 mèches orientées prélevé en vertex postérieur
Soumission chimique délai de plainte < 3j	Sang	1×5 ml sur NaF 2×10 ml ou 3×7 ml sur EDTA
	Urine	2×15 ml dans flacon plastique
	Cheveux	Prélèvement conjointement avec le sang et urine 1 mèche orienté
Soumission chimique délai de plainte ≥3j	Cheveux	Prélèvement tardif (3-5 semaine après les faits) 3mèches orienté
Infraction à la législation sur les stupéfiants	Urine	2×15 ml dans flacons plastique
	Cheveux	1-2 Mèches orientées Poils possible

V.1.3. Les conditions de conservation et de stockage des prélèvements :**V.1.3.1. Chez le cadavre :**

Tous ces prélèvements seront conservés au congélateur durant des mois, voire des années. Toute inscription manuscrite est donc à proscrire. Il est fortement conseillé d'utiliser des étiquettes autocollantes préparées avant l'autopsie. L'étiquetage des flacons et des tubes de prélèvements se fait avant le recueil, ou immédiatement après mais toujours en salle d'autopsie.

Dès la fin du recueil, les étiquettes restantes non utilisées sont placées avec les notes d'autopsie pour garder une traçabilité des prélèvements effectués et ceux non effectués. Le rapport établi par le médecin légiste après l'autopsie précisera le nombre de chaque type de prélèvement réalisé.

Une fois effectués, ces prélèvements doivent être scellés par les enquêteurs qui assistent à l'autopsie, notamment dans les affaires d'homicide. Cette pratique pourtant obligatoire. Dans

ce cas, le regroupement des prélèvements dans un sac thermo soudé au moment de l'autopsie est un moyen, certes imparfait, mais qui évite de mélanger ces prélèvements avec ceux provenant des autopsies suivantes.

-Tous ces prélèvements provenant d'un même sujet peuvent être stockés dans une même boîte (ou un même sac thermo soudé), à l'exception des cheveux, puisque leur conservation est différente. Cette boîte (ou sac) est stockée au congélateur alors que les cheveux sont conservés dans une enveloppe à température ambiante. Si aucune analyse toxicologique n'est demandée, le médecin légiste conserve ces échantillons durant un temps qu'il jugera suffisant, et ne pourra les détruire qu'après accord du parquet. Souvent, ces prélèvements sont conservés durant une année. Dans certains centres où la toxicologie n'est pas présente, les enquêteurs ayant assisté à l'autopsie prennent en charge ces prélèvements pour les acheminer vers un expert toxicologue. Il est important, dans ce cas, que le médecin légiste qui fournit ces prélèvements s'assure que leur transport s'effectuera dans des conditions satisfaisantes notamment en matière de maintien de la chaîne du froid. Si le toxicologue vient lui-même prendre en charge les prélèvements, le médecin légiste lui remet l'intégralité de ces prélèvements contre présentation d'une réquisition émanant d'un Parquet ou d'une ordonnance de commission d'expert émanant d'un juge d'instruction. Une copie de cette réquisition ou de cette ordonnance est archivée par le médecin légiste justifiant ainsi l'abandon de ces prélèvements au profit du toxicologue qui en devient seul responsable. Seule la durée de conservation des prélèvements pour dosage de l'alcool dans le sang dans le cadre de la sécurité routière est aujourd'hui définie. Cette durée est de 9 mois. Pour tous les cas de prélèvements d'autopsie, il n'existe aucune limitation de durée dans les textes. Le toxicologue doit donc conserver tous ses prélèvements sauf s'il a reçu l'autorisation d'un magistrat pour les détruire. En pratique, il doit lister l'ensemble des prélèvements qu'il se destine à détruire et les communiquer au Parquet. En ce qui concerne les prélèvements d'autopsie, un bon compromis est probablement celui de conserver les échantillons de sang et de détruire les autres prélèvements après un certain temps (au moins égal à une année). À noter également que la destruction de ces prélèvements ne peut se faire que par incinération par des circuits adaptés à ce type d'échantillons si cette destruction a lieu en dehors d'une structure hospitalière.

V.1.3.2. Chez le vivant :[49]

Contexte	Prélèvement	Conservation
Sécurité routière	URINE	+4° C si dépistage différé Congélation si délai ≥ 24 h
	SALIVE	Le prélèvement salivaire est déposé sur les tests immuno chimie dès son recueil
	SANG	Avant analyse : +4°C Après analyse : congélation Durée : 9 mois pour l'alcoolémie et 1 ans pour les stupéfiants
	CHEVEUX	Température ambiante
Soumission chimique délai de plainte <3j	SANG	A congelé rapidement avant analyse et à conserver congelé après analyse Durée : pas de destruction possible sans l'accord de l'autorité requérante si contexte judiciaire
	URINE	Conserver à l'abri de la lumière pour éviter dégradation du LSD à congeler rapidement avant analyse et à conserver congelé après analyse Durée : pas de destruction possible sans l'accord de l'autorité requérante si contexte judiciaire
	CHEVEUX	Température ambiante
Soumission chimique délai de plainte ≥ 3j	CHEVEUX	Température ambiante
Infraction à législation sur les stupéfiants	URINE	+4°C si délai < 24h Congélation si délai ≥ 24 h
	CHEVEUX	Température ambiante

V.1.4. Prétraitement :

V.1.4.1 Préparation des échantillons :

a) Extraction liquide liquide:

L'ELL est fondée sur la distribution d'un soluté (S) entre deux solvants (A et B) en fonction de la solubilité de celui-ci dans chacun d'eux. En général, le solvant A représenté le solvant aqueux et le B, le solvant organique.

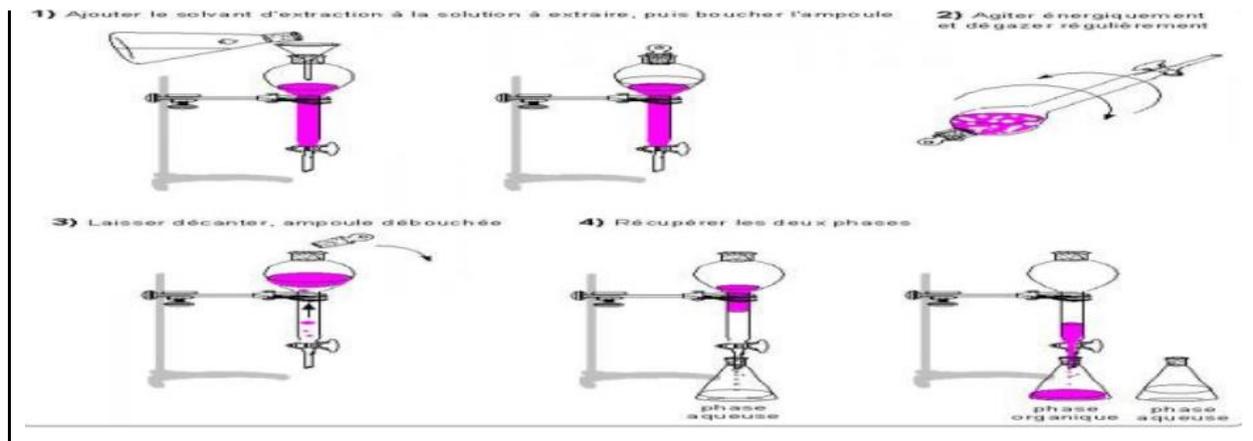


Figure 16: protocole de l'extraction liquide-liquide

b) Prétraitement des échantillons par hydrolyse :

Dans les métabolismes de phase II, les dérivés β -glucuroconjugés et sulfoconjugés sont des dérivés très stables qui nécessitent une procédure d'hydrolyse pour une analyse des molécules relatives ou issues du métabolisme de phase I. Celle-ci est le plus fréquemment réalisée dans les urines. L'hydrolyse peut être obtenue par incubation à 100 °C en présence d'un acide ou d'une base forte. Les procédures standards utilisent de l'HCl à 37 % pendant 15 minutes à 100 °C.

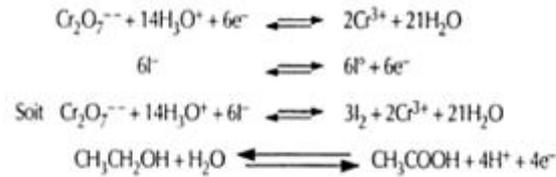
V.2. Etape analytique :

V.2.1. Dosage de l'alcool éthylique dans le sang par méthode de cordebard :

Principe :

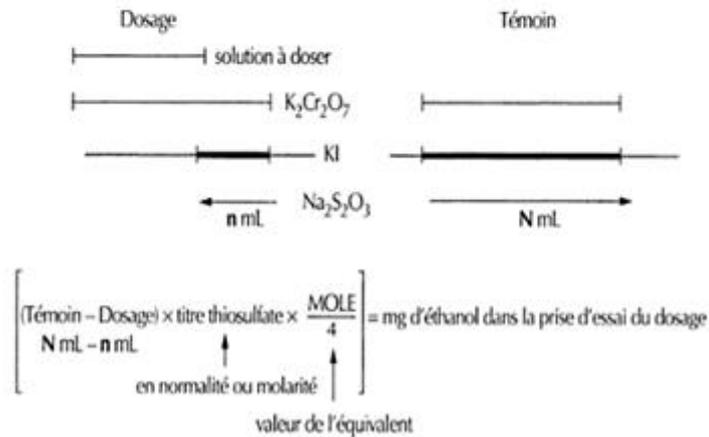
Cette méthode repose sur la volatilité (propriété physique) et le pouvoir réducteur (propriété chimique) de l'éthanol. L'opération de distillation est précédée d'une défécation à l'acide picrique (élimination des matières albuminoïdes interférentes). L'éthanol distillé est oxydé en acide acétique à froid par un excès de liqueur nitro chromique titré qui est déterminée par iodométrie (addition de l'iodure de potassium et dosage de l'iode libéré par une solution de thiosulfate de sodium).

Schéma réactionnelle :



$$\text{d'où l'équivalent} = \left(\frac{46}{4}\right) \text{ ou } \frac{\text{MOLE}}{4} \text{ soit } 11,5 \text{ g.éq}^{-1}$$

Schéma réactionnel



Mode opératoire :

Distillation :

- Placer dans un ballon 20 ml d'eau distillée, faire arriver délicatement sous la couche aqueuse 5 ml de sang
- Rincez la pipette en aspirant la partie supérieure de la couche aqueuse
- Agitez par douce rotation pour provoquer l'hémolyse
- Versez lentement et en agitant (par rotation du ballon) 70 ml de solution aqueuse saturée d'acide picrique et enfin un peu de talc (agent ami-moussant)
- Montez le ballon avec le réfrigérant
- 40ml d'éthanol distillé sont recueillis dans un erlen jaugée contenant 5ml d'eau distillée (dans lesquels plongez l'extrémité du réfrigérant). le volume est complété à

50 ml avec de l'eau distillée.



Figure 17: montage de distillation

Titrage : le titrage se fait par une solution de thiosulfate de Na 0,05N, jusqu'à décoloration exacte :

	Témoins	Dosage
Solution nitro chromique	10ml	10ml
Eau distillée	2ml	/
Distillat	/	2ml
Eau distillée 10 min après	20ml	20ml
Solution de KI à 1%	10ml	10ml
Chute de burette	N	N

V.2.2. Dosage de CO par méthode de WOLFF :

Principe :

Cette méthode est basée sur la floculation différentielle de HbCO par rapport à HbO₂. Le PH sanguin est à 7.38.

pH =6 de l'HbO₂ (les protéines sont à l'état neutre) précipitation de l'HbO₂.

pH =4.5 il y a précipitation de l'HbCO.

Le mode opératoire :

- On fait une dilution sanguine au 1/5 avec de l'eau distillée : 1 ml de sang dans 4 ml d'eau distillée préalablement bouillie et refroidie, on mélange de façon non violente pour provoquer l'hémolyse.
- Dans un tube à centrifuger, on mélange doucement sans agitation 2 ml de solution sanguine avec 8 ml de solution tampon.
- On porte le mélange au bain marie à 55°C durant cinq minutes exactement. On refroidit immédiatement sous un courant d'eau puis centrifugeur.
- Le filtrat obtenu est passé au spectrophotomètre à 533 nm ;
- Une coloration rose de surnageant ou du filtrat signe la présence de CO et le pourcentage de saturation de l'hémoglobine en CO devrait être lu sur une courbe d'étalonnage en regard de la densité optique mesuré.



Figure 18: a: coloration du surnageant d'un témoin négative
b: comparaison de la coloration du surnageant

- Pour préparer la courbe d'étalonnage:
- saturer un tube /O₂ : 100% HbO₂=S1.
- -saturer un tube /CO : 100% HbCO= S2.
- Préparer la gamme d'étalonnage par mélange de S1+S2.
- La courbe d'étalonnage est réalisée en préparant les 2 ml de dilution sanguine (auxquels seront ajoutée les 8 ml de solution tampon) de la manière suivante :

	Pourcentage de saturation en carboxyhémoglobine						
	0	10	20	40	60	80	100
Dilution de sang à 100% d'oxyhémoglobine	2	1.8	1.6	1.2	0.8	0.4	0
Dilution de sang à 100% d'oxyhémoglobine	0	0.2	0.4	0.8	1.2	1.6	2

V.2.3. Recherche des salicylés par le réactif de TRINDER :

Principe de recherche :

En milieu chlorhydrique et en présence de chlorure mercurique, l'acide salicylique, réagit par son hydroxyle phénolique sur les ions ferriques en développant une coloration violette proportionnelle à la quantité d'acide salicylique présent. Avec le réactif de TRINDER, on se trouve exactement dans ces mêmes conditions.

Mode opératoire :

.1. Sang

Le sang est recueilli sur mélange de wintrobe ou sur tube sec.

Dans un tube à centrifuger, introduire successivement 1ml de sang avec 5ml de réactif de TRINDER agiter une minute et centrifuger (si on a utilisé du sang total).

.2. Urine

Faire une dilution au 1/5eme de l'urine dans l'eau distillée.

Dans un tube à essai, introduire successivement 1ml d'urine diluée avec 5ml de réactif de TRINDER.

.3.Liquide gastrique :

La même réaction est applicable à la recherche de l'acide salicylique dans les liquides gastrique, mais dans le cas d'absorption d'acide acétylsalicylique, la réaction est négative ou peu positive.

Hydrolyse/Dilution/Réaction

Dans un erlenmeyer de 100 ml, mélanger :

10ml de liquide gastrique.

10 ml d'eau distillée.

1 La solution de NaOH à 40%.

Ajouter une bille de verre. Chauffer à feu nu en agitant, durant 5 min. Refroidir sous un courant d'eau froide. Prélever 1 ml d'hydrolysats, ajouter 4ml d'eau et amener le pH au voisinage de 5 à l'aide d'une solution d'acide chlorhydrique diluée au 1 /10 ème.

Mélanger alors :

1 ml Liquide neutralisé avec 5 ml Réactif de TRINDER.

une coloration violette proportionnelle à la quantité d'acide salicylique présent. Avec le réactif de Trinder, on se trouve exactement dans ces mêmes conditions.

V.2.4. Identification des barbituriques par Chromatographie sur couche mince:

Principe : le phénobarbital est un antiépileptique à caractère acide. Il est extrait par l'éther en milieu acide. La réaction avec les ions mercure du réactif LEMAIRE permet sa mise en évidence par CCM.

Mode opératoire :

Extraction : elle peut être réalisée après acidification des liquides biologiques par l'éther selon la technique de JAULMES et CASSIGNIOL préconisée pour la recherche des barbituriques et des carbamates dans les urines ou le liquide gastrique. On utilise comme étalon des solutions éthanoliques de barbituriques : phénobarbital (Gardéнал).

Identification des spots: lorsque la plaque est sèche, le chromatogramme est examiné en lumière ultraviolette (254 nm) et la position d'éventuel les taches fluorescentes est notée. La révélation se fera ensuite par le réactif de LEMAIRE au sulfate mercurique sous une hotte aspirante :

- Les spots correspondants aux barbituriques se révèlent en blanc sur un fond gris.
- Les spots correspondants aux carbamates apparaissent sous forme de fusils blancs qui se détachent à peine des dépôts après séchage de la plaque à l'étuve ou au bain de sable.

V.2.5. Recherche des benzodiazépines :

Recherche par colorimétrie :

Principe :

Coloration spécifique après hydrolyse acide et réaction avec un réactif spécifique à partir des urines.

Mode opératoire :

Mettre dans trois tubes à essai 1 ml d'urine et 1 ml d'acide chlorhydrique 6N. Introduire les deux derniers au bain marie bouillant pendant 10 minutes, refroidir ces derniers sous un courant d'eau froid puis ajouter dans chaque tube 0,5 ml de sulfamates d'ammonium et 0,5 ml du réactif de Tréfouël.

V.2.6. Identification des phénothiazines et imipramines par réactions colorimétriques :**1. Principe :**

Les phénothiazines sont des neuroleptiques de première génération. Les imipramines sont des antidépresseurs de première génération. Ce sont des molécules liposolubles extractibles par des solvants comme le dichlorométhane après alcalinisation des milieux biologiques. En solution dans l'acide phosphorique en présence de parabenzoquinone, ils développent des colorations violette, rose et bleue. Ces réactions colorimétriques s'observent aussi avec le réactif F.P.N ou le réactif de FORREST par échange de cations.

2. Mode opératoire :**Extraction :**

5 ml d'urine ou de liquide de LG.

1 ml de soude.

5 ml de dichlorométhane.

Agitez et laissez reposer.

Recueillir la phase organique sur du sulfate de sodium.

Caractérisation : dans un tube :

5 ml de phase organique.

1ml d'acide phosphorique.

Agiter durant 1 minute.

Ajouter 1l de BENZOQUINONE.

Agiter durant 30 secondes.

V.2.7. Caractérisation de l'Amitriptyline par une réaction colorée :

1. Principe :

Amitriptyline et ses métabolites peu polaires sont extractibles par des solvants comme le dichlorométhane après alcalinisation des milieux biologiques. En solution dans l'acide sulfurique concentré, ils développent une coloration orangée.

2. Mode opératoire :

Extraction :

Dans une ampoule à décanter, alcalinisez 5 ml d'urine (ou liquide de lavage gastrique) par 1 ml de NaOH à 40%. Ajoutez 8 ml de dichlorométhane et agitez vigoureusement pendant 3 minutes. Après décantation, centrifugez la phase organique et lavez-la avec de l'eau distillée jusqu'à ce que la phase organique inférieure soit pratiquement limpide. Recueillir la phase organique dans une capsule en porcelaine blanche (à fond rond) et évaporer environ le cinquième du volume.

Caractérisation :

Ajoutez sur le résidu sec 3 ml d'acide sulfurique pur.

En présence de triptylines, il se développe une intense coloration :

Rouge orangée (liquide de lavage gastrique).

V.2.8. Caractérisation des alcaloïdes :

1-Principe :

- La mise en évidence des alcaloïdes consiste à les précipiter par les réactifs généraux des alcaloïdes.
- Ces réactions de précipitation sont fondées sur leur capacité à former des complexes insolubles avec les métaux
- Il s'agit principalement de:
 - Réaction de BOUCHARDAT (solution iodo-iodurée)
 - Réaction de DRAGENDORFF (iodobismuthate de potassium)
 - Réaction de MAYER (mercure-iodure de potassium)

2- Mode opératoire :

Préparation d'un extrait acide :

- Ajouter environ 10 ml d'acide sulfurique à 10% au prélèvement sanguin.
- Agiter 2 minutes, filtrer.
- Récupérer le filtrat = solution aqueuse acide d'alcaloïdes totaux.

Analyse toxicologique:**1. Extraction : Dans une ampoule à décanter mettre :**

- ❖ Alcalinisation : 10 ml d'urine + quelques gouttes de soude (NaOH 1N), bien mélangé.
- ❖ Extraction : ajouter 10 ml de dichlorométhane ; agiter mécaniquement pendant 3 minutes et laisser décanter (3 minutes).
 - Recueillir la phase organique dans une capsule en porcelaine.
 - Evaporer à sec sur une plaque chauffante.
- ❖ Acidification : 10 ml d'urine + quelques gouttes de (HCL 1 N), bien mélangé.
- ❖ Extraction : ajouter 10 ml d'éther agité mécaniquement pendant 3 minutes et laisser décanter (3 minutes).
 - Recueillir la phase organique dans une capsule en porcelaine.
 - Evaporer à sec sur une plaque chauffante.

1. Chromatographie sur couche mince :

- Délimiter deux couloirs sur la plaque en gravant des traits verticaux à l'aide d'un embout. Tracer légèrement une ligne à environ 1cm du bas de la plaque (gouttière ou ligne de départ) et graver une ligne horizontale à 10 cm de l'origine pour marquer la limite du développement.
- Reconstituer l'extrait basique dans 1 ml d'éthanol et appliquer sur la ligne de départ environ 80 ul.
- Vérifier que la plaque est sèche, puis développer le chromatogramme dans une cuve de migration.
- Retirer la plaque et la sécher.
 - Pulvériser sur chaque partie les réactifs indiqués dans le tableau.
 - Noter pour chaque spot la couleur et la forme et calculer le Rf.
 - Médicaments acides : étalons Paracétamol, salicylés, barbituriques, carbamates, acide valproïque.
 - Médicaments alcalins : étalons Phénothiazines, benzodiazépines, les ADT (imipramine,...), les alcaloïdes

3. Migration :

- ✓ Phase mobile acide : 80 ml chloroforme+20 ml acétone.
- ✓ Phase mobile alcaline : méthanol 100 ml + ammoniac 1,5 ml.

V.2.9. Dosage immunoenzymatique par VIVA-E

Le système **Viva-ProE®** est un analyseur multiparamétrique totalement automatisé pour le dosage des médicaments, le dépistage de drogues urinaires, la toxicologie sérique et les tests d'adultération des urines.



Figure 19: analyseur Viva-ProE

Principe d'analyse EMIT :

EMIT: Enzyme multiplied immuno assay technique

- Technique d'immuno dosage enzymatique en phase homogène utilisé pour l'analyse de composés spécifiques dans les fluides biologiques.
- Le dosage est basé sur la compétition entre la substance présente dans l'échantillon et la substance marquée par un enzyme pour occuper les sites de liaison des anticorps.

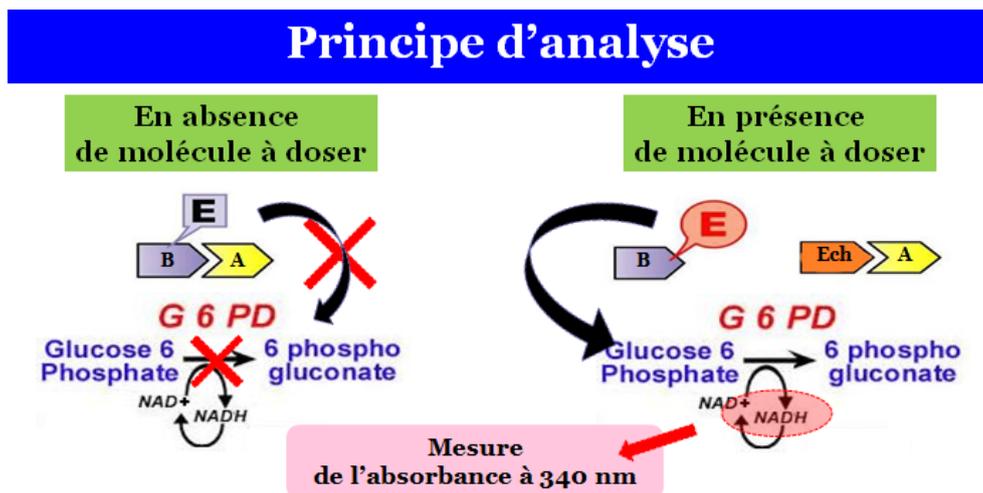


Figure 20 : principe d'analyse de l'analyseur VivaE

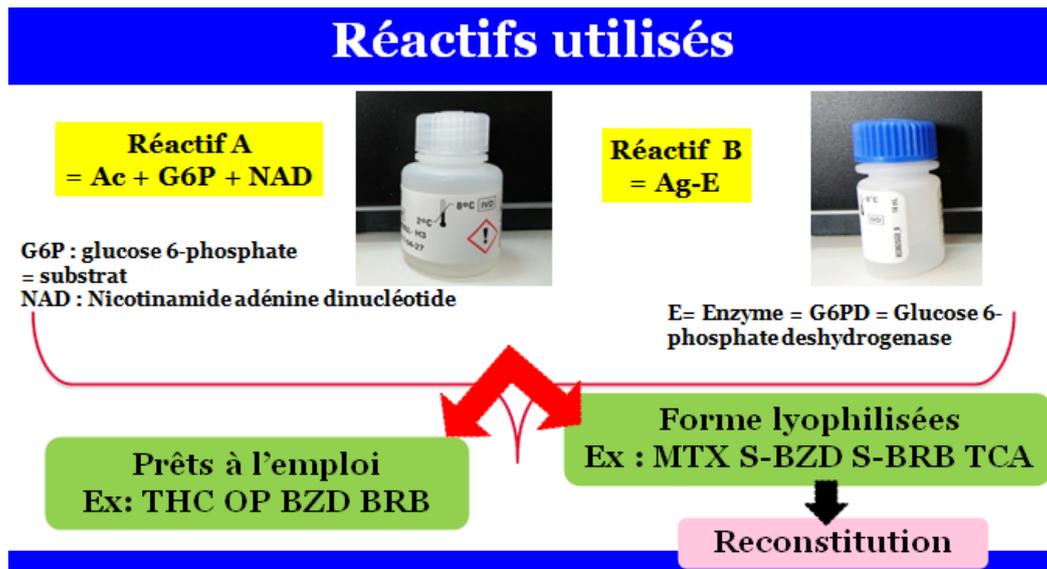


Figure 21:réactifs utilisés

Tableau VII: Dépistage des drogues urinaires

les drogues	Seuil de détection (ng/mlou ug/L)	Durée de positivité
Amphétamines	300	Jusqu'à 4 jours
Ecstasy	300	Jusqu'à 72 heures
Cannabis	50	usage occasionnel : jusqu'à 3à5 jours usage réguliers :30à70 jours
Cocaïne et crack	300	usage occasionnel : 2à4 jours usage réguliers :10 à14 jours
Opiacés	300	Entre 24 h à72 h
Barbiturique	200	3jours à 3 semaines
Benzodiazépine		/
Tramadol	100	3jours

Tableau VIII: dépistages des médicaments

Médicaments	Seuil de dépistage
Acide valproïques	5-100mg/l
Carbamazépine	Monothérapie : 6-12 mg/l Polythérapie : 4-8mg /l
Phénobarbital	15-30 mg/l
Digoxine	<65ans :0,5-1,2 ng/ml >65 ans :0,5-0,8 ng/ml

V.3.Phase post-analytique :

V.3.1. Résultats et interprétation :

A/Dosage de l'alcool :

Calculer la concentration de l'alcool 70 % :

On a la densité de l'alcool c'est 0,789

70mld 'alcool \longrightarrow 100 ml de solution ou aussi :

700 ml d'alcool \longrightarrow 1000 ml de solution

Donc : la concentration de l'alcool c'est : $C = 0,55 \text{ g/ml} = 550 \text{ g/l}$

À la suite de ce premier essai, nous avons obtenu les résultats suivants :

- Tube 1 : chute de burette c'est 9 ml

L'alcoolémie en g/l = $25 * 5,25 = 25 * 5,25 = 0,8 \text{ g/l}$

À la suite de ce deuxième essai, nous avons obtenu les résultats suivants :

- Tube 2 : chute de burette c'est 8,7 ml

L'alcoolémie en g/l = $2 * 5,25 = 1,6 \text{ g/l}$

À la suite de ce troisième essai, nous avons obtenu les résultats suivants :

- Tube 3 : chute de burette c'est 8,3 ml

L'alcoolémie en g/l = $25 * 5,25 = 2,8 \text{ g/l}$

À la suite de ce quatrième essai, nous avons obtenu les résultats suivants :

- Tube 4 : chute de burette c'est 8 ml

L'alcoolémie en g/l = $25 * 5,25 = 3,6 \text{ g/l}$

- Pour le témoin on a fait 3 fois entre chaque essais : 9,5 ml ; 9,3 ml ; 9,2 ml

Calculer la moyenne : = 9,3 ml

D'après la concentration de l'alcool de la solution mère on calcule la concentration d'alcool dans les échantillons par la relation suivante : $C_1V_1 = C_2V_2$

- Pour le tube qui contient 0,5 ml d'alcool : $C_2 = 0,55 \text{ g/l}$
- Pour le tube qui contient de 1 ml d'alcool : $C_2 = 1,1 \text{ g/l}$
- Pour le tube qui contient de 1,5 ml d'alcool : $C_2 = 1,65 \text{ g/l}$
- Pour le tube qui contient de 2 ml d'alcool : $C_2 = 2,2 \text{ g/l}$

Remarque : le sang est prélevé dans des tubes EDTA et conservé dans les frigos pendant 3 jours avant de l'utiliser

Interprétation :

Il y a une différence dans la concentration d'alcool après la distillation par rapport à la concentration d'alcool introduite dans les échantillons.

Cette différenciation est grâce à la température de stockage et la présence de conservateur (EDTA) sont deux facteurs clés qui affectent la néogenèse de l'éthanol pendant le transport et le stockage.

b/ Réactions Colorées (Screening-Test):

- FORREST (coloration bleu ++ imipramine / coloration divers: ++phénothiazine)
- TRINDER (coloration violette ++salicylés)
- Acide sulfurique (coloration orange ++amitriptyline)
- Réactif de Bouchardat: (iodo – ioduré) : précipité brun (++alcaloïdes)
- Réactif de Dragendorff : (iodobismuthate de potassium) : précipité orangé à rouge (++alcaloïdes)
- Réactif de Valser Mayer : (mercuri –iodure de potassium) : précipité blanc jaunâtre (++alcaloïdes)

c /Révélation par des réactifs appropriés :

	Réactifs	Substance à révéler	Coloration
Révélateurs de la plaque acide	Trinder	Salicylates	-Violet
	Lemair	carbamates	-Spot blanc sur fon gris après chauffage
	Chlorure ferrique	Barbiturique	- Spot blanc sur fon gris
Révélateurs de la plaque alcaline	Forrest	Paracétamol	Bleu vert
	Acide sulfurique	Imipramina Amitriptyline Phénothiazines	Bleu Orange Violet, rose, rouge ...

**d/Cas reçus et examens effectués :****Cas n 1 :**

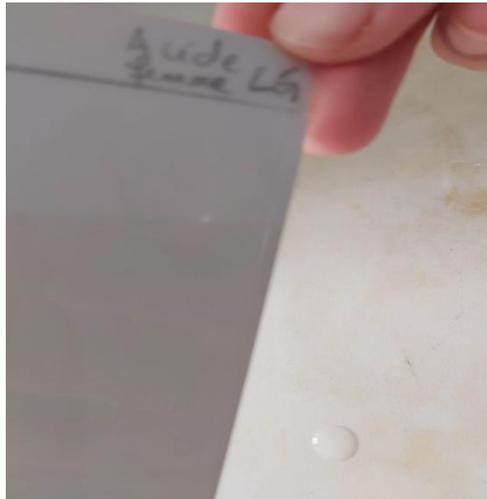
Il s'agit d'une femme âgée de 28 ans décédée, avec une suspicion de toxicomanie.

Paramètres demandé : recherche de toxiques

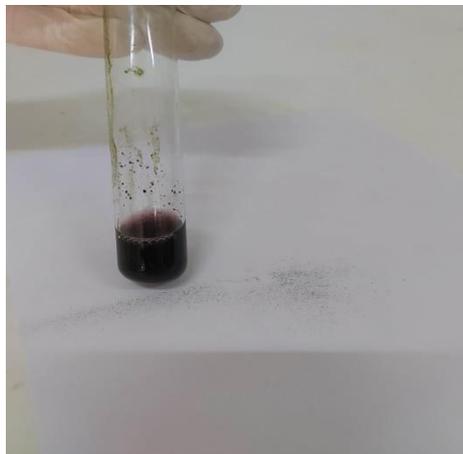
Prélèvements reçus : sang, bile et lavage gastrique

Examens effectués :

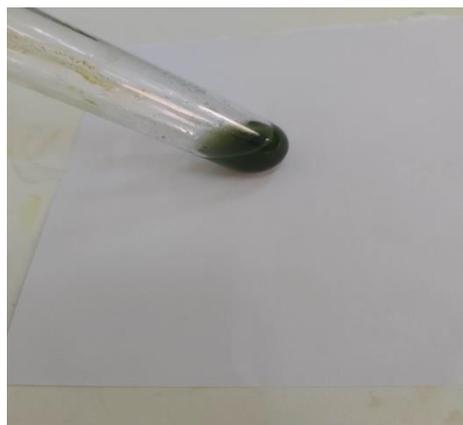
Recherche des toxiques acides : présence de barbituriques dans le lavage gastrique et le sang



Recherche de toxiques alcalins : présence de benzodiazépines dans le lavage gastrique



Aspects des prélèvements : apparition d'une coloration verte dans le lavage gastrique et la bile après acidification



Cas n 2 :

Il s'agit d'un homme

Paramètres demandé : recherche de toxiques

Prélèvements reçus : sang sur tube EDTA

Examens effectués :

Recherche des toxiques acides : présence de barbituriques dans le sang



Recherche de toxiques alcalins : absence de molécules basiques

e/ Dosage de CO :

- La saturation du sang au CO étant impossible à réaliser à notre niveau, l'interprétation des résultats reste qualitative. Néanmoins, nous avons préparé une fiche technique de saturation et d'analyse quantitative.
- Nous avons analysé un échantillon sanguin d'un sujet sain et le témoin négatif (figure 23) donne une absorbance de : 0,652. Tout au long de notre étude nous n'avons pas reçu un cas d'intoxication au CO.



DISCUSSION

Discussion :

La toxicologie est une discipline qui étudie la nature et les effets des sources toxiques dans l'organisme. La toxicologie médico-légale s'occupe particulièrement de la recherche, identification et quantifications de substances toxiques chez les vivants et les cadavres pour répondre aux questions de la justice et parfois du praticien, en matière de consommation de substances illicites ou de médicaments et d'intoxication accidentelles ou volontaires ayant pu conduire au décès et aussi elle s'occupe de la recherche de substances ayant pu modifier le comportement ou les performances d'un individu.

Vu l'importance de cette unité, notre travail avait pour trait son installation au niveau du service de toxicologie de CHU de Tlemcen. Pour ce faire, nous avons tout d'abord établi l'état de besoin en matériels et réactifs et avons préparés des fiches techniques d'analyse de plusieurs paramètres et des fiches de renseignements et de précaution.

On a commencé par la mise au point de la technique de dosage de l'éthanol par cordebard et l'analyse qualitative du monoxyde de carbone par la méthode de Wolff et on a préparé des fiches techniques pour chaque méthode. La plupart des équipements et des verreries nécessaires étaient reçus à titre de décharge de la part de la faculté de médecine de Tlemcen (décharge en annexe)

Lors de la manipulation des produits ou substances chimiques, il arrive très souvent que ces derniers soient dangereuses c'est pourquoi nous avons préparé des fiches représentant des pictogrammes qui informent sur les précautions à prendre lors de leur manipulation.

Des fiches de renseignements doivent accompagner les prélèvements envoyés au toxicologue. Elles doivent comporter trois parties, une partie pour les informations sur le patient, une deuxième pour clinique et la troisième pour le prélèvement. Ces informations sont indispensables pour pouvoir interpréter les résultats analytiques. Deux modèles de fiches ont été établies, l'une pour analyse toxicologique chez le vivant et post mortum et l'autre pour analyse capillaire. Les deux fiches ont été envoyées au service de médecine légale.

En vue d'enrichir notre travail, nous sommes allées au niveau du service de la médecine légale (CHU de Tlemcen) pour voir les différents types de prélèvements réalisés sur un cadavre. Suite à une demande judiciaire ou réquisition les médecins légistes réalisent quatre prélèvements obligatoires : le sang périphérique, sang cardiaque, les urines, le contenu gastrique.

Le sang est le milieu le plus important de tous les prélèvements réalisés lors d'une autopsie[181]. On en distingue deux types : le sang périphérique et le sang cardiaque.

Le Sang cardiaque est le sang le plus facile à prélever. Il est présent en grande quantité lorsque le cadavre est relativement frais. Ce sang n'a qu'un intérêt qualitatif. Il va servir au toxicologue pour effectuer les criblages, c'est-à-dire des recherches larges non spécifiques. Il ne doit pas être utilisé pour un résultat quantitatif car les résultats peuvent être rendus à tort en excès pour deux raisons :

DISCUSSION

La première, la plus importante, est due au relargage *post mortem* des molécules à tropisme cardiaque ou à forte diffusion tissulaire-

La seconde est due à une redistribution *post mortem* depuis le contenu gastrique. En effet, lors de l'ingestion massive de substances, les concentrations observées dans le contenu gastrique sont très élevées par rapport à celles observées dans le sang. Du fait de la position horizontale des corps, les molécules à forte diffusion (comme l'alcool par exemple) peuvent migrer de la cavité digestive vers le cœur relativement proche et entraîner des concentrations sanguines cardiaques de plus en plus élevées au fur et à mesure que le délai *post mortem* augmente[182].

Le Sang périphérique permet de doser l'ensemble des molécules ayant pu entraîner le décès et de pouvoir interpréter le résultat sans risque d'erreur, le sang périphérique n'étant sujet ni au relargage *post mortem* des cellules cardiaques, ni à la diffusion *post mortem* depuis le contenu gastrique, il est conservé et utilisé généralement pour les dosages et non pour les criblages réalisés dans ce cas sur le sang cardiaque[183].

Une fois prélevé, le sang périphérique est réparti dans deux types de contenant : pour moitié dans un pot en verre ou plastique sans anticoagulant et conservateur ou un tube sec sans gélose), et l'autre moitié dans un tube sans gélose contenant 0,1 % de fluorure de sodium soit un tube à bouchon gris en milieu hospitalier et non pas sur un tube EDTA. Vu la non disponibilité des tubes NaF prêts à l'emploi au niveau du CHU Tlemcen, nous avons procédé à préparer quarante tubes et nous les avons acheminé au service de médecine légale.

L'urine est également un prélèvement important pour le toxicologue pour la recherche des causes de décès[184].

Le contenu gastrique 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 une intoxication aux cyanures), de solvants, d'hydrocarbures. Ces odeurs de solvants ou hydrocarbures devront s'accompagner de prélèvements spécifiques pour substances volatiles. 10 ml sont suffisants pour l'analyse toxicologique.

Les prélèvements réalisés chez du vivant vont dépendre du contexte dans lequel la recherche toxicologique est demandée par le magistrat ou l'officier de police judiciaire.

Quatre types de prélèvements peuvent être effectués dans le contexte de sécurité routière : un prélèvement sanguin, un prélèvement urinaire, un prélèvement salivaire ou un prélèvement de cheveux.

Prélèvement urinaire présente l'avantage forte concentration en métabolite qui sont souvent les substances recherchées en immuno analyse. Mais pas de distinction entre prise récente et prise ancienne, peu pratique à réaliser car le prélèvement est effectué sur bord de route.

DISCUSSION

Prélèvement salivaire présente un avantage (facilité de dépistage présence des molécules mères, plus spécifique d'une prise récente), mais elle est moins sensible que les urines pour certains drogues comme le THC et les amphétamines

Prélèvement sanguin est utilisé pour confirmation et dosage des stupéfiants (meilleure conservation sur héparinate).

Prélèvement capillaire est utilisé pour la restitution du permis, permet de vérifier l'abstinence en stupéfiants sur plusieurs semaines

Pour les prélèvements 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). Ces prélèvements doivent être réalisés le plus rapidement possible après les faits présumés

Prélèvements dans un contexte d'infraction à la législation sur les stupéfiants sont deux types de prélèvements :

- Prélèvement urinaire permet de différencier un revendeur non toxicomane d'un revendeur. Egalement consommateur.
- Prélèvement de cheveux : permet de différencier un revendeur non toxicomane d'un revendeur. Egalement consommateur lorsque le délai de 4j de garde à vue est écoulé.

Pour le dosage de l'alcoolémie, les prélèvements sont effectués sur fluorure de sodium qui agit à la fois comme anticoagulant en liant les ions Ca^{2+} et stabilisateur de glucose. Ce dernier se décompose en pyruvate et en lactate avec la mise en œuvre séquentielle de diverses réactions enzymatiques le NaF permet de bloquer ce processus de glycolyse pendant 24 heures à température ambiante. D'où son application en outre pour le dosage du glucose et du lactate.

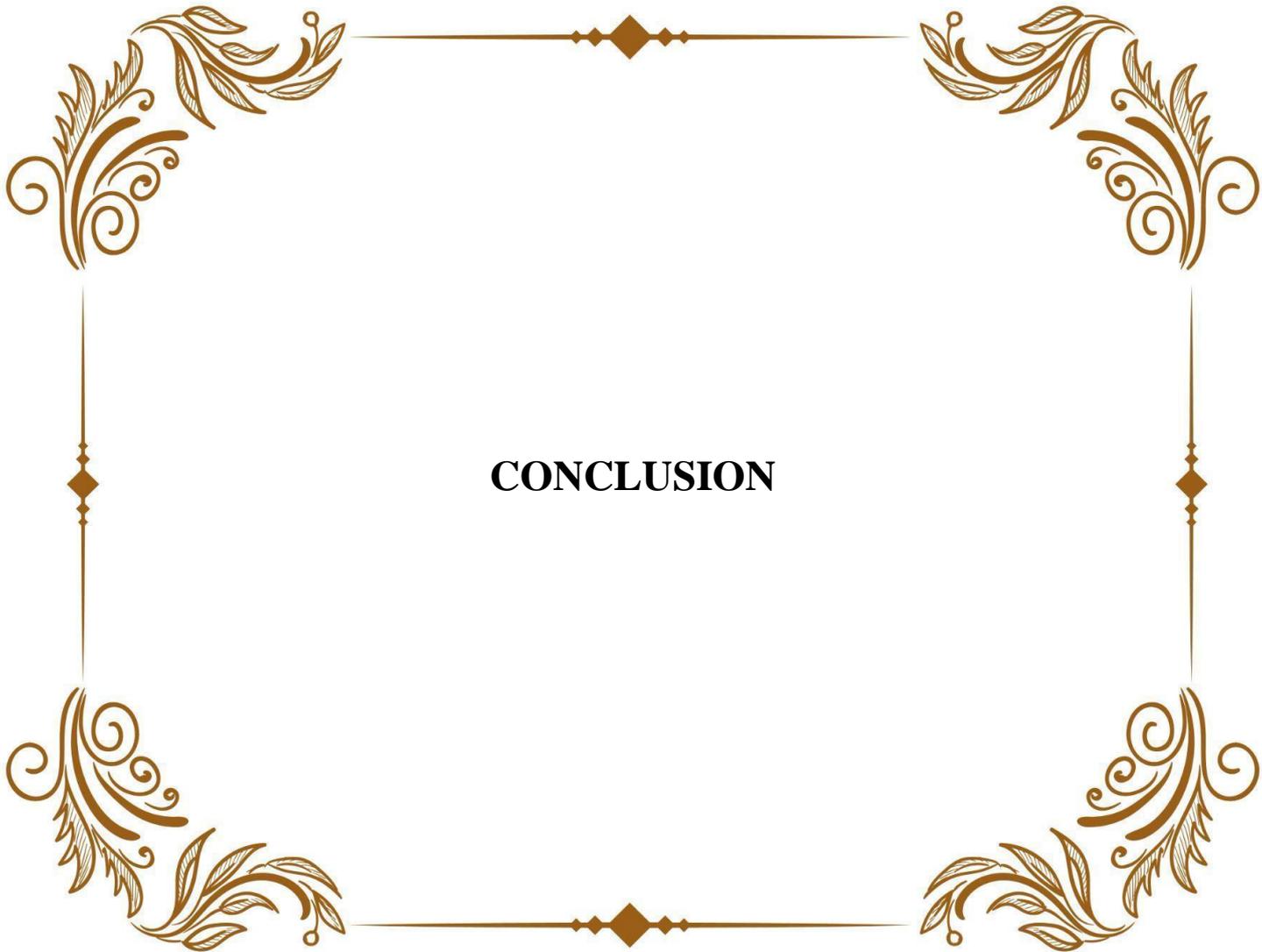
Avant chaque dosage on doit réaliser des Prétraitement :

- Extraction liquide liquide est une technique permettant la concentration des échantillons et la purification, ce qui peut dans certains cas solubiliser les solutés d'intérêt, éliminer les molécules interférentes et permettre par exemple de limiter les effets de matrice avec suppression ou amplification d'ions en CLHP/SM-SM en mode électrospray. Cette méthode présente également l'avantage de pouvoir travailler sur des matrices plus difficiles comme le sang laqué *post mortem*, les viscères ou les cheveux qui ne sont pas toujours compatibles avec l'EPS. Elle présente cependant les inconvénients d'être longue et difficilement automatisable, consommatrice de solvants organiques souvent toxiques, et n'est pas la méthode de choix pour les molécules très polaires qui préféreront les méthodes de précipitation ou d'EPS.
- Prétraitement des échantillons par hydrolyse présentent l'avantage d'être rapides mais peuvent dégrader l'échantillon et notamment les molécules d'intérêt sensibles aux conditions plus extrêmes de pH (benzodiazépines, cocaïne ou dérivés opiacés).

Limite de l'étude :

Nous avons rencontrés plusieurs obstacles lors de notre étude :

- Pas de petits équipements et manque de verreries et consommables.
- Pas de réactifs suffisants.
- Cette étude présente des biais d'information : Le recueil des informations a été réalisé à partir d'une fiche de renseignement, par conséquent, les données concernant les médicaments supposés ingérés, la symptomatologie, les traitements reçus au service, peuvent être manquants ou incomplets ce qui rend difficile l'interprétation correcte des résultats de l'analyse de chaque patient.



CONCLUSION

Conclusion et perspectives :

L'unité de toxicologie médico-légale est fonctionnelle et reçoit des prélèvements médico-légaux pour rechercher les cause de décès et ou le dosage de l'éthanolémie par Cordebard, recherche qualitative de l'intoxication au CO.

Pour fournir une réponse fiable aux médecins légistes et enquêteurs et sa dépend étroitement des équipements dans l'état de besoin du service :

- Dosage fiable et spécifique de l'éthanolémie par CPG-FID pour poser le diagnostic de conduite sous influence d'éthanol ou en cas d'accident de la route.
- Dosage d'autres alcools par CPG-FID (méthanol et EG).
- Diagnostic de soumission chimique par dosage des drogues au niveau capillaire par HPLC-SM/SM.
- Recherche et quantification des substances volatiles et gazeuses par CPG –SM (CO₂, les anesthésiques généraux).
- Identifications des produits suspects retrouvés sur les lieux des crimes par RMN (comprimés inconnus, contenu d'une seringue...).
- Dosage fiable de l'HBCO par Spectroscopie IR.
- Diagnostic de décès par noyade par dosage du strontium dans le sang et l'eau par ICP-SM.



BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

[1] <https://www.dicocitations.com/citations/citation-98117.php>

[2] geoconfluences.ens-lyon.fr/glossaire/toxicologie

[3] H. D. Neuwinger, *African ethnobotany: poisons and drugs : chemistry, pharmacology, toxicology*. London; New York: Chapman & Hall, 1996.

[4] E. F. Frey, « *The earliest medical texts* », *Clio Medica Amst. Neth.*, vol. 20, no 14, p. 7990, 1986 1985.

[5] S. Aziz, A. Aeron, et T. Kahil, « *Health Benefits and Possible Risks of Herbal Medicine* », 2016. doi: 10.1007/978-3-319-25277-3_6.

[6] H. Hotti et H. Rischer, « *The killer of Socrates: Coniine and Related Alkaloids in the Plant Kingdom* », *Molecules*, vol. 22, no 11, Art. no 11, nov. 2017, doi: 10.3390/molecules22111962.

[7] « *Alexander the Great: The Invisible Enemy: A Biography* », Routledge & CRC Press. <https://www.routledge.com/Alexander-the-Great-The-Invisible-Enemy-ABiography/OBrien/p/book/9780415106177> .

[8] I. M. Whyte, « *Clinical toxicology: One man's poison* », *Emerg. Med.*, vol. 12, no 1, p. 1113, 2000, doi: <https://doi.org/10.1046/j.1442-2026.2000.00089.x>.

[9] « *Visible Proofs: Forensic Views of the Body: Galleries: Biographies: Mathieu Joseph Bonaventure Orfila (1787–1853)* ». https://www.nlm.nih.gov/exhibition/visibleproofs/galleries/biographies/orfila_image_3.html .

[10] « *Figure 3: Portrait of Mathieu JB Orfila alongside the first page of his...* », ResearchGate. https://www.researchgate.net/figure/Portrait-of-Mathieu-JB-Orfila-alongside-the-first-page-of-his-famous-1814-treatise-on-the_fig4_51243698.

[11] « *Chemistry and Forensic Science in America | American Experience | PBS* ». <https://www.pbs.org/wgbh/americanexperience/features/poisoners-handbookChemistry-and-Forensic-Science-in-America/> .

[12] H. Gram, « *M J B Orfila The Father of Forensic Toxicology - Drugs and Chemistry* », *Drug Times*, déc. 06, 2020. <https://www.drugtimes.org/drugschemistry/m-j-b-orfila-the-father-of-forensic-toxicology.html> (consulté le janv. 08,2022)

[13] Marc Augsburger, christian staub <https://www.revmed.ch> « *revue médicale.suisse-164* » (consulté le oct .15.2022)

[14] Marc Augsburger, christian staub <https://www.revmed.ch> « *revue médicale.suisse-164* » (consulté le oct .15.2022)

BIBLIOGRAPHIE

- [15] R. G. Menezes et F. N. Monteiro, « Forensic Autopsy », in *StatPearls, Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2020. Consulté le: janv. 14, 2021. [En ligne]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539901/>*
- [16] F. K. Adatsi, « Forensic Toxicology », in *Encyclopedia of Toxicology (Third Edition)*, P. Wexler, Éd. Oxford: Academic Press, 2014, p. 647652. doi: 10.1016/B978-0-12-386454-3.00387-0.
- [17] Beaulieu P, Lambert C. *Précis de pharmacologie : du fondamental à la clinique. Les Presses de l'Université de Montréal*; 2010.
- [18] *Pharmacomedicale.org. Devenir normal du médicament dans l'organisme : étapes du devenir. <http://pharmacomedicale.org> (consulté le 12 Décembre 2022).*
- [19] CNPM (Collège national de pharmacologie médicale), Molimard M, Charbit B. (coordinateurs) *Initiation à la connaissance du médicament. Paris : Vernazobres-Grego; 2011.*
- [20] Moulin M, Coquerel A. *Éléments de pharmacocinétique. In : Pharmacologie. Paris : Masson; 2002. p. 53–69.*
- [21] Rang HP, Dale MM, Ritter JM, et al. *Pharmacology Absorption and distribution of drugs. Toronto : Churchill Livingstone; 2003.*
- [22] Katzung BG. *Pharmacologie fondamentale et clinique. 9e éd. Padoue : Piccin; 2005*
- [23] Nebert DW, Nelson DR, Coon MJ, et al. *The P450 superfamily : update on new sequences, gene mapping, and recommended nomenclature. DNA Cell Biol 1991; 10 : 1–14.*
- [24] Cupp MJ, Tracy TS. *Cytochrome P450 : new nomenclature and clinical implications. Am Fam Physician 1998; 57 : 107–116.*
- [25] T. Solicitors, « Road Traffic Accidents | Thompsons Trade Union Solicitors », *Thompsons Solicitors. <https://www.thompsonstradeunion.law/services/road-trafficaccidents>*
- [26] A. Morel et J.-P. Coueron, *Les conduites addictives. Dunod, 2008. doi: 10.3917/dunod.morel.2008.01.*
- [27] Kintz P, Villain M, Mandel A, Cirimele V. *Les marqueurs de l'éthylisme chronique. Focus sur les approches immuno-chimiques. Ann Toxicol Anal 2009; 21 : 21–5.*
- [28] Y. Li, D. Xie, G. Nie, et J. Zhang, « The Drink Driving Situation in China », *Traffic Inj. Prev.*, vol. 13, no 2, p. 101108, mars 2012, doi:10.1080/15389588.2011.637097
- [29] Lands W. *A review of alcohol clearance in humans. Alcohol 1998; 15 : 147–60.*
- [30] *Inserm. Document consulté sur le. 23 juin 2009. http://ist.inserm.fr/basisrapports/alcool_effets/alcool_effets_ch1.pdf/.*
- [31] Salmela KS, Kessova IG, Tsvlorv IB, Lieber CS. *Respectives roles of human cytochrome P-450E1, 1A2, and 3A4 in the hepatic microsomal ethanol oxidizing system. Alcohol Clin Exp Res 1998; 22 : 2125–32.*

BIBLIOGRAPHIE

- [32] Zakhary S. Overview : How alcohol is metabolized. Document consulté le 23 juin 2009. <http://pubs.niaaa.nih.gov/publications/arh294/245-255.html>.
- [33] Salmela KS, Kessova IG, Tsvlorv IB, Lieber CS. Respectives roles of human cytochrome P-4502E1, 1A2, and 3A4 in the hepatic microsomal ethanol oxidizing system. *Alcohol Clin Exp Res* 1998; 22 : 2125-32.
- [34] Sturner WQ, Coumbis RJ. The quantitation of ethyl alcohol in vitreous humor and blood by gas chromatography. *Am J Clin Pathol* 1966; 46 : 349-51
- [35] Goullé J-P, Lacroix C. Alcoolémie : aspects médico-légaux. *Toxicorama* 1999; 11 : 54-66.
- [36] « Understanding the Effects of Alcohol: Drunk Driving ». <http://sciencenetlinks.com/interactives/alcohol/ebook/pages/drun-driving.htm>
- [37] SAAQ, « Effects of Alcohol on Driving », SAAQ. <https://saaq.gouv.qc.ca/en/roadsafety/behaviours/drinking-and-driving/effects-of-alcohol-on-driving/>
- [38] Jones AW. Biomarkers of recent dinking, retrograde extrapolation of blood-alcohol concentration and plasma-to-blood distribution ratio in a case of driving under the influence of alcohol. *J Forensic Leg Med* 2011; 18 : 213-6.
- [39] Fernández P, López-Rivadulla M, Liñares JM, Tato F, Bermejo AM. A comparative pharmacokinetic study of ethanol in the blood, vitreous humour and aqueous humour of rabbits. *Forensic Sci Int.* 1989; 41(1-2): 61-65.
- [40] Anonymous, « The legal limit », Mobility and transport - European Commission, https://ec.europa.eu/transport/road_safety/specialist/knowledge/alcohol/prevalence_a mp_rate_of_alcohol_consumption/the_legal_limit_en (consulté le janv. 28, 2021)
- [41] « GHO | By category | Legal BAC limits - by country », WHO. <https://apps.who.int/gho/data/view.main.54600> (consulté le janv. 28, 2021).
- [42] « Carte : que dit la législation sur l'alcool au volant dans les pays du Maghreb ? – Jeune Afrique », *JeuneAfrique.com*, avr. 08, 2016.
- [43] I. Sec, « Chemical Submission », in *Child Abuse: Diagnostic and Forensic Considerations*, C. Rey-Salmon et C. Adamsbaum, Éd. Cham: Springer International Publishing, 2018, p. 251-256.
- [44] ElSohly MA, Salamone SJ. Prevalence of drugs used in cases of alleged sexual assault. *J Anal Toxicol* 1999; 23 : 141-6.
- [45] G. Pépin, « [Analytical, toxicological and forensic aspects of drug-facilitated crimes: 10 years of experience] », *Ann. Pharm. Fr.*, vol. 68, no 2, p. 61-75 mars 2010.

BIBLIOGRAPHIE

- [46] Goullé JP, Bigo M, Lacroix C. GHB sanguin et urinaire après épreuves de charge par voie orale et par voie veineuse. *J Med Leg Droit Med* 2003; 46 : 101–8.
- [47] Kintz P. La soumission chimique. Aspects analytiques et expertises médico-légales. *Ann Toxicol Anal* 2001; 13 : 120.
- [48] Skopp, G., *Preanalytic aspects in postmortem toxicology, Forensic Science International*. 2004 ; 142 : 75-100.
- [49] Kintz P., Villain M., Cirimele V., Janey C., Ludes B. Ann Toxicol Décret n° 2003-293 du 31 mars 2003. Restitution de permis de conduire à partir d'analyses de cheveux. *Anal tox anal*.2003 ; 15 (2) : 117-122.
- [50] D. Thieme et P. Hemmersbach, *Doping in Sports*. Springer Science & Business Media, 2009
- [51] « Article L230-3 - Code du sport - Légifrance ».
- [52] « Liste des interdictions 2021 AMA ». Consulté le: janv. 31, 2023 [En ligne].
Disponible sur: https://www.wadaama.org/sites/default/files/resources/files/2021list_fr_0.pdf
- [53] K. Kelland, « Substances and methods used in doping », *Reuters*, juill. 28, 2012. Consulté le: janv. 31, 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.reuters.com/article/us-oly-dop-day1-idUSBRE86R0DA20120728>
- [54] N. I. on D. Abuse, « Understanding Drug Use and Addiction DrugFacts », *National Institute on Drug Abuse*, juin 06, 2018.
<https://www.drugabuse.gov/publications/drugfacts/understanding-drug-use-addiction> (consulté le févr. 05, 2023) .
- [55] « La drogue et la conduite | Sécurité Routière ».
<https://www.securiteroutiere.gouv.fr/dangers-de-la-route/la-drogue-et-la-conduite> (consulté le janv. 29,2023).
- [56] Pelissier A-L, Leonetti G, Villani P, et al. Cannabis : toxicokinetic focus and methodology of urinary screening. *Therapie* 1997; 52 : 213–8
- [57] Huestis M Henningfield J. Cone E. Blood cannabinoïds II Models for the prediction of time of marijuana exposure from plasma concentrations of THC and THCCOOH., *J. Anal. Toxicol*. 1992, 16, 283-286.
- [58] Huestis MA, Sampson AH, Holicky BJ, et al. Characterization of the absorption phase of marijuana smoking. *Clin Pharmacol Ther* 1992; 52 : 31–41.
- [59] Smith-Kielland A, Skuterud B, Morland J. Urinary excretion of 11-nor-9-carboxydelta9-tetrahydrocannabinol and cannabinoids in frequent and infrequent drug users. *J Anal Toxicol* 1999 ; 23 : 323–32.

BIBLIOGRAPHIE

- [60] « *The Effects of Marijuana on Your Body* », *Healthline*, août 19, 2014.
<https://www.healthline.com/health/addiction/marijuana/effects-on-body> (consulté le mars 11, 2023)
- [61] « *Cannabis and Cannabinoids (PDQ®)–Health Professional Version - National Cancer Institute* », mars 16, 2011.
<https://www.cancer.gov/aboutcancer/treatment/cam/hp/cannabis-pdq> .
- [62] Butel P. *L'opium, histoire d'une fascination*. Paris : Perrin; 1995
- [63] Lacassie E, Gaulier JM, Ragot S, Marquet P, Lachâtre G. Dosages sériques et urinaires d'hétérosides cardiotoniques par LCES-MS, dans un cas d'intoxication non mortel par la digitale pourpre, *Toxicorama*. 1999 ; XI (2) : 110-116.
- [64] Barroso M, Gallardo E, Vieira DN, et al. Bioanalytical procedures and recent developments in the determination of opiates/opioids in human biological samples. *Anal Bioanal Chem* 2011; 400 : 1665–90.
- [65] Baumgartner AM, Jones PF, Baumgartner WA, Black CT. Radioimmunoassay of hair for determining opiate-abuse histories. *J Nucl Med* 1979; 20 : 748–52.
- [66] Barroso M, Gallardo E, Vieira DN, Queiroz JA. Hair : a complementary source of bioanalytical information in forensic toxicology. *Bioanalysis* 2011; 3 : 67–79.
- [67] Karch SB. Cocaine. In : Karch SB, editor. *The pathology of drug abuse*. 2nd ed. Boca Raton : CRC Press INC; 1996. p. 1–175.
- [68] Fandino AS, Toennes SW, Kauert GF. Studies on in vitro degradation of anhydroecgonine methyl ester (methylecgonidine) in human plasma. *J Anal Toxicol* 2002; 26 : 567–70
- [69] Toennes SW, Fandino AS, Hesse FJ, Kauert GF. Artifact production in the assay of anhydroecgonine methyl ester in serum using gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2003; 792 : 345–51.
- [70] Isen Schmid DS, Levine BS, Caplan YH. A comprehensive study of the stability of cocaine and its metabolites. *J Anal Toxicol* 1992; 16 : 319–24.
- [71] Cone EJ, Menchen SL. Stability of cocaine in saliva. [Tech Brief]. *Clin Chem* 1988; 34 : 1508.
- [72] Bosker WM, Huestis MA. Oral fluid testing for drugs of abuse. *Clin Chem* 2009; 55 : 1910–30. ANALYSE TOXICOLOGIQUES
- [73] McKinney PE, Phillips S, Gomez HF, et al. Vitreous humor cocaine and metabolite concentrations : do postmortem specimens reflect blood level at the time of death ? *J Foren Sci* 1995 ; 40 : 102–7.
- [74] M. Carvalho et al., « Toxicity of amphetamines: an update », *Arch. Toxicol.*, vol. 86, no 8, p. 11671231, août 2012, doi: 10.1007/s00204-012-0815-5.
-

BIBLIOGRAPHIE

- [75] « *Goldfrank's Toxicologic Emergencies, 10e* | *AccessEmergency Medicine* | McGraw-Hill Medical ». <https://accessemergencymedicine.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1163§ionid=64552562> .
- [76] Blais R, Letarte A, Harvey B, « *Amphétamines. Dans Centre antipoisson du Québec. Guides de traitement – Guide 95, version 31.* » Centre antipoisson du Québec, Centre intégré universitaire de santé et de services sociaux de la Capitale-Nationale.
- [77] L. Karila, B. Megarbane, O. Cottencin, et M. Lejoyeux, « *Synthetic cathinones: a new public health problem* », *Curr. Neuropharmacol.*, vol. 13, no 1, p. 1220, janv. 2015, doi: 10.2174/1570159X13666141210224137
- [78] « *Medical Toxicology of Drug Abuse: Synthesized Chemicals and Psychoactive Plants* | Wiley », Wiley.com. <https://www.wiley.com/enus/Medical+Toxicology+of+Drug+Abuse%3A+Synthesized+Chemicals+and+Psychoactive+Plants-p-9780471727606> .
- [79] E. S. U. February 12 et 2021, « *What's An Amphetamine? Addiction: Signs, Symptoms, and Treatment* », American Addiction Centers.
- [80] H. H. Publishing, « *Carbon Monoxide Poisoning* », Harvard Health. https://www.health.harvard.edu/a_to_z/carbon-monoxide-poisoning-a-to-z (consulté le janvier 16, 2023)
- [81] Géronimi J-L. *Le monoxyde de carbone; Tech. & Doc./Lavoisier : Paris, 2000.*
- [82] « *Toxicological Profile for Carbon Monoxide* ». Consulté le: janvier 16, 2023. [En ligne].
Disponible sur: <https://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp201-c2.pdf>
- [83] Katsumata Y, Aoki M, Sato K, Suzuki O, Oya M, Yada S. *A simple spectrophotometry for determination of carboxyhemoglobin in blood, Journal of Forensic Sciences.*1982 ; 27 (4) : 928-934..
- [84] Brehmer C, Iten PX. *Rapid determination of carboxyhemoglobin in blood by Oximeter, Forensic Science International.*2003 ; 133 : 179-181.
- [85] Lee C-W, Tam JCN, Kung L-K, Yim L-K. *Validity of CO-oximetric determination of carboxyhaemoglobin in putrefying blood and body cavity fluid, Forensic Science International.*2003 ; 132 : 153-156.
- [86] J. Graham et J. Traylor, « *Cyanide Toxicity* », in *StatPearls, Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2020.*
- [87] D. M. Culnan et al., « *Carbon Monoxide and Cyanide Poisoning in the Burned Pregnant Patient: An Indication for Hyperbaric Oxygen Therapy* », *Ann. Plast. Surg.*, vol. 80, no 3 Suppl 2, p. S106-112 mars 2018.

BIBLIOGRAPHIE

- [88] J. L. Parker-Cote, J. Rizer, J. P. Vakkalanka, S. V. Rege, et C. P. Holstege, « Challenges in the diagnosis of acute cyanide poisoning », *Clin. Toxicol. Phila. Pa*, vol. 56, no 7, p. 609-617 juill 2018
- [89] Ricordel I, Renaudeau C, Blanchet JC, Noto R, Pailler FM. *Les agressifs chimiques*. éd. France Sélection Paris. 1997 ; 267 p. ISBN 2-85266-076 8.
- [90] Lindsay A E, Greenbaumb AR, O'Hare D. *Analytical techniques for cyanide in blood and published blood cyanide concentrations from healthy subjects and fire victims*, *Analytica Chimica Acta*. 2004 ; 511 : 185–195.
- [91] Baud F., Benaissa L. *Cyanures et nitriles*, In: *Toxicologie Clinique*, Chantal Bismuth. *Médecine-Sciences*, Flammarion, 5e édition, 2000, pp. 907-911.
- [92] Guevara I, Iwanejko J, Dembinska-Kiec A, Pankiewicz J, Wanat A, Anna P, Golabek I, Bartus S, Malczewska-Malec M, Szczudlik A. *Determination of nitrite / nitrate in human biological material by the simple Griess reaction*, *Analytica Chimica Acta*. 1998 ; 274 : 177–188
- [93] Ha HR, Bigler L, Wendt B, Maggiorini M, Follath F. *Identification and quantitation of novel metabolites of amiodarone in plasma of treated patients*, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2005 ; 24 : 271–279.
- [94] Lacassie E, Gaulier JM, Ragot S, Marquet P, Lachâtre G. *Dosages sériques et urinaires d'hétérosides cardiotoniques par LCES-MS, dans un cas d'intox*
- [95] Pépin, G., Dubourvieux, N., Gaillard, Y., Wacheux, C., Cheze, M., *Etude de la dégradation post-mortem de 20 benzodiazépines, 9 métabolites, de la buspirone, du zolpidem et de la zopiclone dans le sang total par -20°C, 4°C, 25°C, 40°C pendant 6 mois*, *Toxicorama*. 1998 ; 10(3) : 153-163.
- [96] « Drug Abuse Warning Network, 2011: National Estimates of Drug-Related Emergency Department Visits », p. 100.
- [97] C. N. Kaufmann, A. P. Spira, G. C. Alexander, L. Rutkow, et R. Mojtabai, « Emergency department visits involving benzodiazepines and non-benzodiazepine receptor agonists », *Am. J. Emerg. Med.*, vol. 35, no 10, p. 1414_1419 octo 2017
- [98] Kratzsch C, Tenberken O, Peters FT, Weber AA, Kraemer T, Maurer HH. *Screening, library-assisted identification and validated quantification of 23 benzodiazepines, flumazenil, zaleplone, zolpidem and zopiclone in plasma by liquid chromatography/mass spectromet*
- [99] Pirnay S, Ricordel I, Libong D, Bouchonnet S. *Sensitive method for the detection of 22 benzodiazepines by gas chromatography-ion trap tandem mass spectrometry*, *Journal of Chromatography A*. 2002 ; 954 : 235-245.
- [100] Smink BE, Brandsma JE, Dijkhuizen A, Lusthof KJ, de Gier JJ, Egberts ACG, Uges DRA. *Quantitative analysis of 33 benzodiazepines, metabolites and benzodiazepine-like*
-

BIBLIOGRAPHIE

substances in whole blood by liquid chromatography–(tandem) mass spectrometry, Journal of Chromatography B. 2004 ; 811 : 13-20.

[101] Capella-Peiro ME, Gil-Agusti M, Martinavarro-Dominguez A, Esteve-Romero J. Determination in serum of some barbiturates using micellar liquid chromatography with direct injection, *Analytical Biochemistry*. 2002 ; 309 : 261–268

[102] Iwai M, Hattori H, Arinobu T, Ishii A, Kumazawa T, Noguchi H, Noguchi H, Suzuki O, Seno H. Simultaneous determination of barbiturates in human biological fluids by direct immersion solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry, *Journal of Chromatography B*. 2004 ; 806 : 65–73.

[103] Namera A, Yashiki M, Iwasaki Y, Ohtani M, Kojima T. Automated procedure for determination of barbiturates in serum using the combined system of PrepStation and gas chromatography–mass spectrometry, *Journal of Chromatography B*. 1998 ; 716 : 171–176.

[104] Karpinska J, Starczewska B. Simultaneous LC determination of some antidepressants combined with neuroleptics, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2002 ; 29 : 519–525.

[105] Lacassie E, Ragot S, Gaulier JM, Marquet P, Lachâtre G. Méthode de dosage spécifique de 24 antidépresseurs par couplage chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (CG/SM), *Acta Clinica Belgica*. 1999 ; Supplement -1 : 20-24.

[106] Kirchherr H, Kuhn-Velten WN. Quantitative determination of forty-eight antidepressants and antipsychotics in human serum by HPLC tandem mass spectrometry: A multi-level, single-sample approach, *Journal of Chromatography B*. 2006 ; 843 : 100–113

[107] V. Olsen et J. Mørland, « [Arsenic poisoning] », *Tidsskr. Den Nor. Laegeforening Tidsskr. Prakt. Med. Ny Raekke*, vol. 124, no 21, p. 2750-2753 nov 2004

[108] « Arsenic Toxicity: Practice Essentials, Background, Pathophysiology », déc. 2020, Consulté le: janvier 23, 2023. [En ligne].

Disponible sur: <https://emedicine.medscape.com/article/812953-overview#a5>

[109] Goullé J-P. Métaux. In : Kintz P, editor. *Toxicologie et pharmacologie médico-légales*. Paris : Elsevier; 1998. p. 189–232.

[110] M. F. Hughes, « Arsenic toxicity and potential mechanisms of action », *Toxicol.Lett.*, vol. 133, no 1, p. 1-16 juill 2002

[111] Testud F. *Pathologie toxique professionnelle et environnementale*. 3e éd Paris : Eska; 2005

BIBLIOGRAPHIE

- [112] Baselt RC. *Disposition of toxic drugs and chemicals in man*. 8th ed. Foster City (CA) : Biomedical Publications; 2008
- [113] Anger J-P, Labat L, Lhermitte M. *La biométhylation des métaux chez l'homme et dans l'environnement : succès ou échec sur le plan toxicologique ?* *Ann Toxicol Anal* 2005; 17 : 175–86. <https://americanaddictioncenters.org/amphetamine>.
- [114] Burguera M, Burguera J-L, Rondon C, di Bernardo ML, Gallignani M, Nieto E, Salinas J. *Appraisal of different electrothermal atomic absorption spectrometric methods for the determination of strontium in biological samples*, *Spectrochimica Acta Part B*. 1999 ; 54 : 805-818.
- [115] Viitak A, Volynsky AB. *Simple procedure for the determination of Cd, Pb, As and Se in biological samples by electrothermal atomic absorption spectrometry using colloidal Pd modifier*, *Talanta*. 2006 ; 70 : 890–895.
- [116] Magnin J-L, Decosterd LA, Centeno C, Burnier M, Diezi J, Biollaz J. *Determination of trace lithium in biological fluids using graphite furnace atomic absorption spectrophotometry: Variability of urine matrices circumvented by cation exchange solid phase extraction*, *Pharmaceutics Acta Helveticae*. 1996 ; 71 : 237-246.
- [117] Goullé J-P, Mahieu L, Castermant J, Neveu N, Bonneau L, Lainé G, Bouige D, Lacroix C. *Metal and metalloid multi-elementary ICP-MS validation in whole blood, plasma, urine and hair. Reference values*, *Forensic Science International*. 2005 ; 153 : 39–44.
- [118] Goullé J-P, Mahieu L, Maignant V, Bouige D, Saussereau E, Lacroix C. *Valeurs usuelles des métaux et métalloïdes dans le sang total et les urines par ICP-MS chez cinquante-quatre sujets décédés*. *Ann Toxicol Anal*. 2007 ; 19 : 43-51.
- [119] Heitland P, Köster HD. *Biomonitoring of 37 trace elements in blood samples from inhabitants of northern Germany by ICP– MS*, *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2006 ; 20 : 253-262.
- [120] Baumgartner A.M., Jones P. J., Baumgartner W.A., Black T.C. : *Radioimmunoassay of hair for determination opiate-abuse histories*. *J. Nucl. Med.*, 1979, 20, 748.
- [121] Skopp G. *Preanalytic aspects in postmortem toxicology*. *Forensic Sci Int* 2004; 142 : 75–100
- [122] Lorin de la Grandmaison G, Leterreux M, Lasseguette K, et al. *Study of the diagnostic value of iron in fresh water drowning*. *Forensic Sci Int* 2006; 157 : 117–20.
- [123] Boiteau H.L. : *Toxicologie médico-légale, Compte rendu du Séminaire de Nantes, 20-21 mai 1985. Cahier de Toxicologie Clinique et Expérimentale*. Lyon: Ed. Alexandre Lacassagne, 1988, 1, 4.

BIBLIOGRAPHIE

- [124] Boiteau H.L. : *Toxicologie médico-légale, Compte rendu du Séminaire de Nantes, 20-21 mai 1985. Cahier de Toxicologie Clinique et Expérimentale. Lyon: Ed. Alexandre Lacassagne, 1988, 2, 18.*
- [125] Cox diana e., pounder D. J. : *Evaluating suspected co-proxamol overdose. Forensic Sci. Int., 1992, 57, 147-156.*
- [126] Deveaux M. : *Colloques et Congrès, Une journée " toxicologie: matrices alternatives et immunochimie ": quand le toxique doit être cherché... ailleurs. Revue Française des Laboratoires, 1997, 290, 97.*
- [127] Deveaux M., Lenoir L., Muller P.H. : *Dosage de l'éthanol dans l'humeur vitrée, corrélation avec l'alcoolémie. Acta Med. Leg. Soc., 1985, 35, 38-47.*
- [128] Deveaux M., Houdret N., Hedouin V., Gosset D. : *Détermination du délai post-mortem par le dosage du potassium dans le corps vitré : une urgence médico-judiciaire. Toxicorama, 1994, 5, 4, 45-48.*
- [129] Mangin P., Kintz P., Tracqui A., Chaumont A.J : *Intérêt de l'humeur vitrée en toxicologie médico légale. Journal de Médecine Légale Droit Médical, 1991, 34, 43-46*
- [130] *Circulaire DH/AF/AF n°96-466 du 18 juillet 1996 relative à la mise en oeuvre de l'ordonnance n°96-346 du 24 avril 1996 portant réforme de l'hospitalisation publique et privée., NOR: TASH9630890C, Direction des Hôpitaux, texte non paru au journal officiel.*
- [131] Deveaux M. : *Colloques et Congrès, Une journée " toxicologie: matrices alternatives et immunochimie ": quand le toxique doit être cherché... ailleurs. Revue Française des Laboratoires, 1997, 290, 97.*
- [132] Pepin G., Gaillard Y. : *Applications médico-légales de l'analyse des xénobiotiques dans les cheveux. Toxicorama . Toxicorama, 1996, 3, 1, 29-39*
- [133] Gouille J.P. : *Colloques et Congrès, Une journée " toxicologie: matrices alternatives et immunochimie ": quand le toxique doit être cherché... ailleurs. Revue Française des Laboratoires, 1997, 290, 95-98.*
- [134] - Boiteau H.L. : *Toxicologie médico-légale, Compte rendu du Séminaire de Nantes, 20-21 mai 1985. Cahier de Toxicologie Clinique et Expérimentale. Lyon: Ed. Alexandre Lacassagne, 1988, 2, 18.*
- [135] Y. H. Caplan et B. A. Goldberger, « *Alternative specimens for workplace drug testing* », *J. Anal. Toxicol.*, vol. 25, no 5, p. 396-399 aout 2001
- [136] « *Handbook of Analytical Therapeutic Drug Monitoring and Toxicology | Taylor & Francis Group* », Taylor & Francis. <https://www.taylorfrancis.com/books/handbookanalytical->

BIBLIOGRAPHIE

therapeutic-drug-monitoring-toxicology-steven-wong-iravingsunshine/e/10.1201/9780203713327

[137] R. J. Dinis-Oliveira, D. N. Vieira, et T. Magalhães, « Guidelines for Collection of Biological Samples for Clinical and Forensic Toxicological Analysis », *Forensic Sci. Res.*, vol. 1, no 1, p. 42-51 janvier 2017

[138] J. Watterson, « Challenges in forensic toxicology of skeletonized human remains », *The Analyst*, vol. 131, no 9, p. 961-965 sep2007

[139] Deveaux M., Lenoir L., Muller P.H. : *Dosage de l'éthanol dans l'humeur vitrée, corrélation avec l'alcoolémie. Acta Med. Leg. Soc.*, 1985, 35, 38-47.

[140] Deveaux M., Houdret N., Hedouin V., Gosset D. : *Détermination du délai post-mortem par le dosage du potassium dans le corps vitré : une urgence médico-judiciaire. Toxicorama*, 1994, 5, 4, 45-48.

[141] Durigon M., Barbet J.P., Barres R., Guillon F., Paraire F., Polivka M. : *Pathologie médico-légale. Masson : Paris, 1988, 161.*

[142] Durigon M. : *Protocoles médico-légaux thanatologiques. J. Méd. Lég. - Droit Médical* 1990, 33, 3, 177- 198.

[143] Gaillard Y., Pepin G. : *Screening and identification of drugs in human hair by high-performance liquid chromatography-photodiode-array UV detection and gas chromatography-mass spectrometry after solidphase extraction, A powerful tool in forensic medicine. . J. Chromatogr.*, 1997, 762, 251-267.

[144] Gouille J.P. : *Colloques et Congrès, Une journée " toxicologie: matrices alternatives et immunochimie ": quand le toxique doit être cherché... ailleurs. Revue Française des Laboratoires*, 1997, 290, 95-98.

[145] Kintz P. : *Drug testing in hair. CRC Press : New York, 1996.*

[146] Le Breton R., Garat J., Garde S. : *Interdit de se tromper, Quarante ans d'expertises médico-légales, Plon : Paris, 1993, 59-110.*

[147] Lecomte-Bonnet D., Nicolas F. : *Guide pratique de thanatologie médico-légale à l'usage des professions judiciaires. Le Léopard d'or : Paris, 1989, 65.*

[148] Lecomte D., Mangin P. : *L'autopsie médico-légale en France, Recommandations adoptées lors de la conférence de consensus du 23 février 1996 à Paris (E.N.M.).*

[149] Le Vert.D. : *Arrêté du 2 novembre 1994 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale, NOR: SPSP9403408A, Ministère des affaires sociales, de la santé et de la ville, Journal Officiel de la République Française.*

BIBLIOGRAPHIE

[150] Hand CW, Baldwin D, Moore RA, et al. Radioimmunoassay of buprenorphine with iodine label : analysis of buprenorphine and metabolites in human plasma. *Ann Clin Biochem* 1986; 23 : 47–53.

[151] Bartlett AJ. The radioimmunoassay of buprenorphine. *Eur J Clin Pharmacol* 1980; 18 : 339–45

Biology. 2006 ; 20 : 253-262.

[152] Cirimele V, Etienne S, Villain M, et al. Evaluation of the One-Step ELISA kit for the detection of buprenorphine in urine, blood, and hair specimens. *Forensic Sci Int* 2004; 143 : 153–6.

[153] Cirimele V, Mandel A, Villain M, Kintz P. Utilisation en routine des tests ELISA OneStep™ (International Diagnostic Systems Corp.) pour le dépistage des xénobiotiques dans les cheveux : bilan de 2 ans d'activité. *Ann Toxicol Ana* 2009; 21 : 9–12.

[154] Pujol M-L, Cirimele V, Tritsch PJ, et al. Evaluation of the IDS One-Step ELISA kits for the detection of illicit drugs in hair. *Forensic Sci Int* 2007; 170 : 189–92.

[155] Coulter C, Tuyay J, Taruc M, Moore C. Semi-quantitative analysis of drugs of abuse, including tetrahydrocannabinol in hair using aqueous extraction and immunoassay. *Forensic Sci Int* 2010; 196 : 70–3.

[156] Mangin P., Kintz P., Tracqui A., Chaumont A.J : Intérêt de l'humeur vitrée en toxicologie médico légale. *Journal de Médecine Légale Droit Médical*, 1991, 34, 43-46.

[157] Marquet P., Francois B., Lofti H., Turcan A., Debord J., Nedelec G., Lachâtre G. : Tungsten determination in biological fluids, hair and nails by plasma emission spectrometry in a case of severe acute intoxication in man. *J. Forensic Sci*, 1997, 42, 527-530.

[158] Humbert L, Grisel F, Richeval C, Lhermitte M. Screening of xenobiotics by ultraperformance liquid chromatography-mass spectrometry using in-source fragmentation at increasing cone voltages : library constitution and an evaluation of spectral stability. *J Anal Toxicol* 2010; 34 : 571–80.

[159] Oiestad EL, Johansen U, Oiestad AM, Christophersen AS. Drug screening of whole blood by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Anal Toxicol* 2011; 35 : 280–93.

[160] Pepin G., Gaillard Y. : Applications médico-légales de l'analyse des xénobiotiques dans les cheveux. *Toxicorama* . *Toxicorama*, 1996, 3, 1, 29-39

[161] Piedelivre R., Fournier E. : *Médecine légale*, 1963, 1155-1156.

BIBLIOGRAPHIE

- [162] Tracqui A., Kintz P., Ludes B., Mangin P. : Deux nouveaux cas d'intoxication mortelle par le Fonzylane® (buflomédil). *Société de médecine légale et de criminologie de France, Université René Descartes : Paris, Communication du 14 oct. 1996.*
- [163] Tracqui A., Geraud A., Kintz P., Deveaux M., Ghysel M.H., Marquet P., Pepin G., Petit G., Ludes B. : Déjà 15 morts par Subutex®, ou le côté obscur de la substitution... *Société Française de Toxicologie Analytique, Lyon, Communication du 9 et 10 oct. 1997, à paraître*
- [164] Guthery B, Bassindale T, Bassindale A, et al. *Qualitative drug analysis of hair extracts by comprehensive two-dimensional gas chromatography/time-of-flight mass spectrometry. J Chromatogr A 2010; 1217 : 4402–10.*
- [165] Scurlock RD, Ohlson GB, Worthen DK. *The detection of Delta9-tetrahydrocannabinol (THC) and 11-nor-9-carboxy-Delta9-tetrahydrocannabinol (THCA) in whole blood using two-dimensional gas chromatography and EI-mass spectrometry. J Anal Toxicol 2006; 30 : 262–6.* [166] Karschner EL, Barnes AJ, Lowe RH, et al. *Validation of a two-dimensional gas chromatography mass spectrometry method for the simultaneous quantification of cannabidiol, Delta(9)-tetrahydrocannabinol (THC), 11-hydroxy-THC, and 11-nor-9-carboxyTHC in plasma. Anal Bioanal Chem 2010; 397 : 603–11.*
- [167] De Vos J, Dixon R, Vermeulen G, et al. *Comprehensive two-dimensional gas chromatography time of flight mass spectrometry (CG×CG-TOFMS) for environmental forensic investigations in developing countries. Chemosphere 2011; 82 : 1230–9.*
- [168] Focant JF, Reiner EJ, Macpherson K, et al. *Measurement of PCDDs, PCDFs, and nonortho-PCBs by comprehensive two-dimensional gas chromatography-isotope dilution time-of-flight mass spectrometry (CG x CG-IDTOFMS). Talanta 2004; 63 : 1231–40.*
- [169] Kueh AJ, Marriott PJ, Wynne PM, Vine JH. *Application of comprehensive twodimensional gas chromatography to drugs analysis in doping control. J Chromatogr A 2003; 1000 : 109–24.*
- [170] VALLON J.J. : *Méthodes modernes de l'expertise toxicologique médico-légale. J. Méd. Lég., Droit médical, 1996, 39, 1, 56-65.*
- [171] Viala A., Deturmeny E., Aubert C., Estadiou M., Durand A., Cano J.P., Delmont J. : *Determination of chloroquine and monodesethyl chloroquine in hair. J. Forensic Sci., 1983, 28, 922-928.* 26 - Verstraete A., Van Haute I. : *Spécificité des immunoessais pour la détection des amphétamines. Toxicorama, 1997, 9, 2, 65*
- [172] Shima N, Miyawaki I, Bando K, et al. *Influences of methamphetamine-induced acute intoxication on urinary and plasma metabolic profiles in the rat. Toxicology 2011; 287 : 29–37.*
- [173] Anastos N, Barnett NW, Lewis SW. *Capillary electrophoresis for forensic drug analysis : A review. Talanta 2005; 67 : 269–79.* [174] Epple R, Blanes L, Beavis A, et al.
-

BIBLIOGRAPHIE

Analysis of amphetamine-type substances by capillary zone electrophoresis using capacitively coupled contactless conductivity detection. Electrophoresis 2010; 31 : 2608–13.

[175] Znaležiona J, Maier V, Ranc V, Ševc ěik J. *Determination of rosiglitazone and metformin in human serum by CE-ESI-MS. J Sep Sci 2011; 34 : 1167–73.*

[176] Elhamili A, Samuelsson J, Bergquist J, Wetterhall M. *Optimizing the extraction, separation and quantification of tricyclic antidepressant drugs in human plasma with CE-ESITOF-MS using cationic-coated capillaries. Electrophoresis 2011; 32 : 647–58.*

[177] Lanaro R, Costa JL, Fernandes LC, et al. *Detection of paraquat in oral fluid, plasma, and urine by capillary electrophoresis for diagnosis of acute poisoning. J Anal Toxicol 2011; 35 : 274–9*

[178] « *Techniques électrophorétiques-Applications* ». <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/lafont/electrophorese/E2.html> (consulté le décembre 06, 2022).

[179] M. R. Ky, V. K. K, P. D. Ghode, et B. E, « *Review On Recent Analytical Techniques Used in Forensic Sciences* », *Am. J. PharmTech Res.*, vol. 10, no 2, p. 164-173 avril 2020

[180] « *A Guide to Atomic Absorption Techniques and Applications* ». <https://www.aurorabiomed.com/a-guide-to-atomic-absorption-techniques-andapplications/> (consulté le décembre 07, 2022)

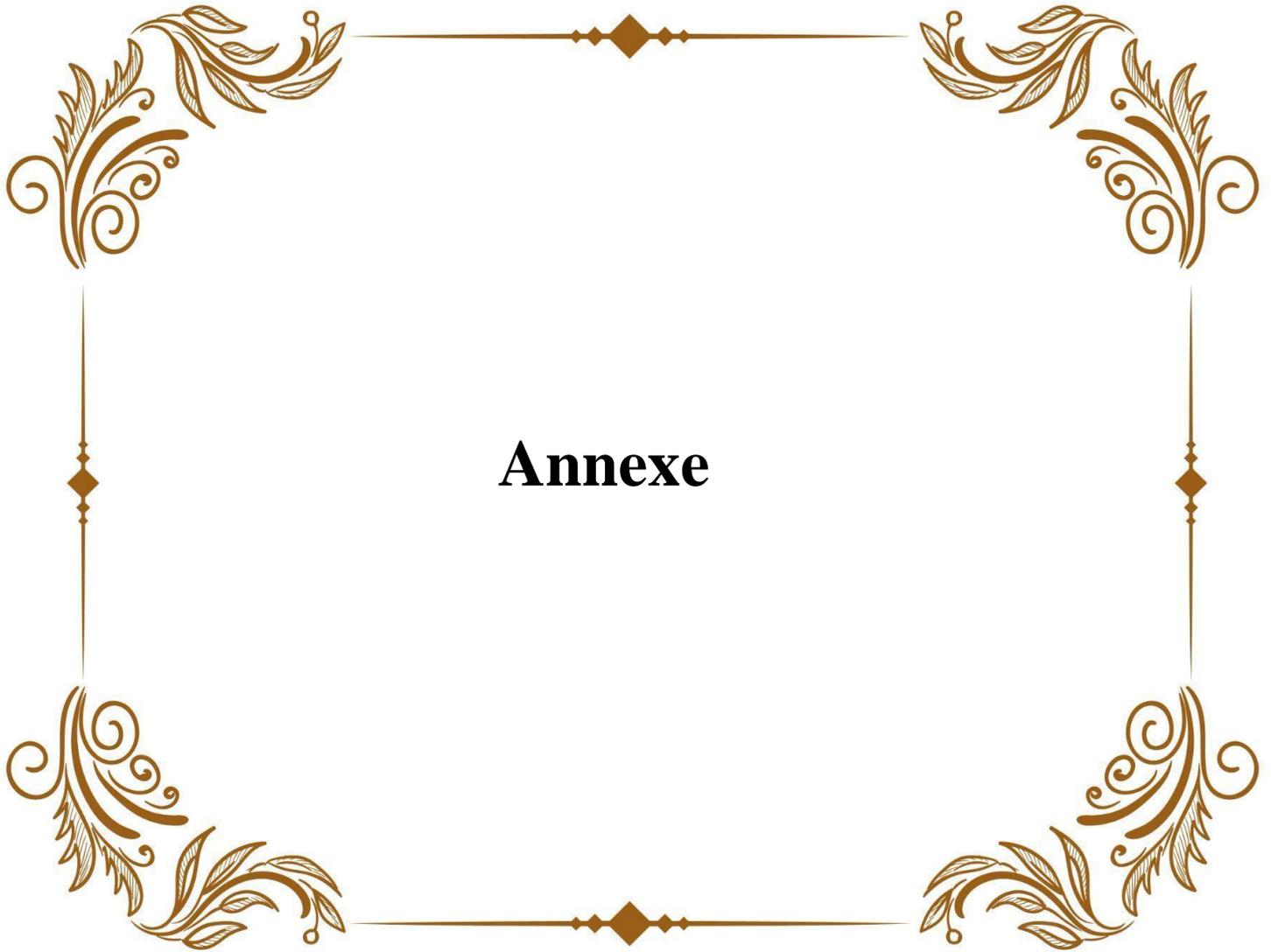
[181]Cooper GAA, Paterson S, Osselton MD.*The United Kingdom and Ireland Association of Forensic Toxicologists Forensic toxicology laboratory guidelines (2010).Sci Justice 2010; 50 : 166–76.*

[182]Skopp G. *Preanalytic aspects in postmortem toxicology.Forensic Sci Int 2004; 142 : 75–100.*

[183]Flanagan RJ, Connally G, Evans JM. *Analytical toxicology : guidelines for sample collection postmortem. Toxicol Rev 2005; 24 : 63–71.*

[184]inis-Oliveira RJ, Carvalho F, Duarte JA, et al. *Collection of biological samples in forensic toxicology.Toxicology Mechanisms and Methods 2010; 20 : 363–414.*

.



Annexe

Dosage de HbCO par la Méthode de Wolff:

1. Principe : Elle est basée sur la floculation différentielle de HbCO par rapport à HbO₂. Le PH sanguin est à 7.38.

pH =6 de l'HbO₂ (les protéines sont à l'état neutre) précipitation de l'HbO₂.

pH =4.5 il y a précipitation de l'HbCO.

2. conditions opératoires :

- Dilution sanguine au **1/5** avec de l'eau distillée. (**1ml** de sang /**4ml** d'eau distillée)
- Tampon **PH=5.35** (PH optimal : Toute l'oxyhémoglobine est précipitée et tout la carboxyhémoglobine est en solution). Dans un tube à centrifuger, mélange doucement sans agitation **2ml** de dilution sanguine et **8ml** de solution tampon.
- Chauffage au bain marie =**55°C** pendant **5 min**.
- Filtration : récupération de la carboxyhémoglobine qui est coloré (coloration rose rouge). Le filtrat obtenu est passé au spectrophotomètre 533 nm.
- Lecture par rapport à une courbe d'étalonnage : coloration proportionnelle à la concentration de carboxyhémoglobine.

-Pour préparer la courbe d'étalonnage:

- saturer un tube /O₂ :100% HbO₂=S1.

- saturer un tube /CO : 100% HbCO= S2.

Préparer la gamme d'étalonnage par mélange de S1+S2.

La courbe d'étalonnage est réalisée en préparant les 2 ml de dilution sanguine (aux quels seront ajoutée les 8 ml de solution tampon) de la manière suivante :

	Pourcentage de saturation en carboxyhémoglobine						
	0	10	20	40	60	80	100
Dilution de sang à 100% d'oxyhémoglobine	2	1.8	1.6	1.2	0.8	0.4	0
Dilution de sang à 100% d'oxyhémoglobine	0	0.2	0.4	0.8	1.2	1.6	2

Annexe

1-Réactifs :

-solution aqueuse d'acide acétique 5N :

Acide acétique300g
.....408g

Eau distillée q.s.p.....1000ml
q.s.p.....1000ml

-Solution aqueuse d'acétate de sodium 3M :

Acétate de sodium 3H₂O

Eau distillée

-Au moment du dosage, préparer la solution tampon de WOLFF (pH=5) de la façon suivante :

Solution d'acide acétique 5N.....1 volume

Solution d'acétate de sodium 3M.....3 volumes

La conservation est limitée à cinq jours à +4 °.

2-Matériel et appareillage :

- Matériel :

Tubes à essai de 10ml dans un portoir

pipette graduée de 5ml

Entonnoirs avec papier filtre

poire

Coton cardé

pissette d'eau distillée

Pipette jaugée de 1 ml

- Appareillage :

Bain marie thermostaté à 55°

Spectrophotomètre (533nm ou 540nm) avec cuve

Identification des barbituriques par Chromatographie sur couche mince

1. Principe : le phénobarbital est un antiépileptique à caractère acide. Il est extrait par l'éther en milieu acide. La réaction avec les ions mercure du réactif LEMAIRE permet sa mise en évidence par CCM.

2. Mode opératoire :

Extraction : elle peut être réalisée après acidification des liquides biologiques par l'éther selon la technique de JAULMES et CASSIGNIOL préconisée pour la recherche des barbituriques et des carbamates dans les urines ou le liquide gastrique. On utilise comme étalon des solutions éthanoliques de barbituriques : phénobarbital (Gardéнал).

Identification des spots: lorsque la plaque est sèche, le chromatogramme est examiné en lumière ultraviolette (254 nm) et la position d'éventuel les taches fluorescentes est notée. La révélation se fera ensuite par le **réactif de LEMAIRE** au sulfate mercurique sous une hotte aspirante :

- ♣ Les spots correspondants aux barbituriques se révèlent en blanc sur un fond gris.
- ♣ Les spots correspondants aux carbamates apparaissent sous forme de fusils blancs qui se détachent à peine des dépôts après séchage de la plaque à l'étuve ou au bain de sable

Réactifs :

- Ether.
- Solution aqueuse de HCl 6N.
- Adsorbant : plaque de gel de silice sur papier d'aluminium avec un indicateur de fluorescence.
- Éluant : solvant de NOIRFALISE (chloroforme, acétone (9/1)).
- Réactif de LEMAIRE.

Phenobarbital (Gardenal)

Matériels :

- Cuve de migration
- Plaque chauffante
- Lampe UV
- Plaque de gel de silice sur papier aluminium.

Caractérisation des barbituriques par la réaction de PARRI

1. Principe :

La réaction de PARRI est une réaction de coloration générale due au groupement fonctionnel commun CO-NH-CO de la molécule de base ; ce groupement a la propriété de donner une coloration violette en présence de sel de Co (nitrate de Co) en milieu alcalin hydres.

2. Mode opératoire :

1. Extraction :

Technique de JAULMES et CASSIGNOL (à partir des urines ou du liquide gastrique) :

Dans une ampoule à décantation, acidifier 20ml d'urine (ou de liquide gastrique) par 1ml d'acide chlorhydrique pur. Ajouter 20ml d'éther et agiter vigoureusement durant trois minutes. Laisser reposer puis renouveler l'opération 2 ou 3 fois. Recueillir l'éther après décantation sur du sulfate de sodium anhydre. Filtrer la phase étherée dans une capsule en porcelaine blanche et évaporer à sec au bain de sable.

2. Caractérisation par la réaction de PARRI :

Le résidu est additionné de 1ml d'éthanol absolu dans lequel il se dissout (gratter le fond de la capsule). Ajouter alors 1ml de la solution éthanolique de nitrate de cobalt à 1% ; après un doux mouvement de rotation, souffler dans la capsule les vapeurs ammoniacales restantes dans une pipette préalablement trompée dans l'ammoniaque et vidée de son contenu.

En présence de barbituriques, il se développe immédiatement une coloration violette nette.

Réactifs :

- Acide chlorhydrique (d=1.18).
- éthanol absolu.
- éther éthylique.
- ammoniaque pure (d=0.90).
- sulfate de sodium anhydre.
- solution de nitrate de cobalt à 1% dans l'éthanol absolu.

Recherche des salicylés dans le sang, urine

1. Principe :

En milieu chlorhydrique et en présence de chlorure mercurique, l'acide salicylique, réagit par son hydroxyle phénolique sur les ions ferriques en développant une coloration violette proportionnelle à la quantité d'acide salicylique présent. Avec le réactif de TRINDER, on se trouve exactement dans ces mêmes conditions.

2. Mode opératoire :

2.1. Sang

Le sang est recueilli sur mélange de wintrobe ou sur tube sec.

Dans un tube à centrifuger, introduire successivement 1ml de sang avec 5ml de réactif de TRINDER agiter une minute et centrifuger (si on a utilisé du sang total). Si la phase surnageant est colorée en violet plus ou moins foncé, on peut conclure la présence d'AS

2.2. Urine

Faire une dilution au 1/5eme de l'urine dans l'eau distillée. Dans un tube à essai, introduire successivement 1ml d'urine diluée avec 5ml de réactif de TRINDER.

Une coloration violette immédiate signe la présence d'AS.

Réactif de TRINDER :

Dans une fiole jaugée de 1 litre :

Chlorure mercurique pour analyses, Merk N°360.....40g

Eau distillée..... 850ml

Chauffer pour dissoudre. Apres refroidissement, ajouter :

HCL concentré pour analyses à 36%, Labosi10ml

Nitrate ferrique Fe(NO3)₃.9H₂O pour analyse , Merk N°281.....40g

Eau distillée qsp1000ml

Agiter et transvaser dans un flacon de verre bouché.

Ce réactif est stable indéfiniment.

Recherche de Paracétamol

Réaction au phénol

1. Principe :

L'hydrolyse acide de N-acétyl para-aminophénol conduit à la libération du p-aminophénol qui est caractérisé après action du phénol entraînant la formation d'un dérivé fortement coloré.

2- Méthode :

Hydrolyse : dans un tube à essai, placer :

2ml d'échantillon

1,5ml d'eau distillée

0,5ml d'acide chlorhydrique 4N

Placer le tube durant ¼ d'heure au bain marie à 60°C, après refroidissement, compléter le volume à 4ml avec de l'eau distillée et agiter.

Réaction : dans un autre tube à essai, placer :

2ml de l'hydrolysat de l'échantillon

5ml d'eau distillée

1ml d'ammoniaque concentrée

En fin 1ml de la solution phénolique à 0.5%

Résultats :

Une coloration bleu roi intense se développant au bout de 10 minutes indique la présence de Paracétamol.

Dosage de l'alcool éthylique dans le sang par méthode de cordebard :

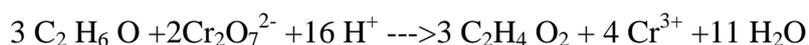
La méthode de CORDEBARD (**Henri CORDEBARD** (1891-1977)) est l'une des méthodes officielles pour le dosage de l'alcool, c'est également la plus ancienne.

1. Principe :

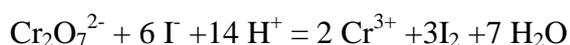
Cette méthode repose sur la volatilité (propriété physique) et le pouvoir réducteur (propriété chimique) de l'éthanol. L'opération de distillation est précédée d'une défécation à l'acide picrique (élimination des matières albuminoïdes interférentes). L'éthanol distillé est oxydée en acide acétique à froid par un excès de liqueur nitrochromique titré qui est déterminée par iodometrie (addition de l'iodure de potassium et dosage de l'iode libéré par une solution de thiosulfate de sodium). Les réactions mises en jeu sont les suivants :

Première réaction :

Réaction d'oxydation :



Deuxième réaction :



Mode opératoire :

Distillation :

- Placer dans un ballon 20 ml d'eau distillée, faire arriver délicatement sous la couche aqueuse 5ml de sang
- Rincez la pipette en aspirant la partie supérieure de la couche aqueuse
- Agitez par douce rotation pour provoquer l'hémolyse
- Versez lentement et en agitant (par rotation du ballon) 70 ml de solution aqueuse saturée d'acide picrique et enfin un peu de talc (agent anti-moussant)
- Montez le ballon avec le réfrigérant
- 40ml d'éthanol distillée sont recueillis dans un erlen jaugée contenant 5ml d'eau distillée (dans lesquels plongez l'extrémité du réfrigérant). le volume est complété à 50 ml avec de l'eau distillée.

Titrage : le titrage se fait par une solution de thiosulfate de Na 0,05N, jusqu'à décoloration exacte

	Témoins	dosage
Solution nitrochromique	10ml	10ml
Eau distillée	2ml	/
Distillat	/	2ml
Eau distillée 10 min après	20ml	20ml
Solution de KI à 1%	10ml	10ml
Chute de burette	N	n

Expression des résultats :

La quantité d'éthanol exprimée en g/l de sang est donnée par la formule suivante :

$$\text{Alcoolémie en g/l} = \frac{10(N-n) \cdot 0,525 \cdot 50}{2 \cdot N \cdot P} \text{ soit } 25,5 \cdot 25 \frac{N-n}{N \cdot P}$$

Avec :

N : volume en ml de solution de thiosulfate de sodium à 0,005 N utilisé pour le témoin .

n : volume en ml de solution de thiosulfate de sodium à 0,005 N utilisé pour l'échantillon.

P : prise d'essai de sang en ml.

Matériel :

1. Appareil de SCHLOESING-AUBIN
2. Ballon jaugé / Erlenmeyer de 250 ml
3. Chauffe-ballon
4. Bec Bunsen

5. Erlenmeyers de 250 ml
6. Burette graduée en $1/20^{\text{ème}}$ de ml
7. Billes de verre lavées au sulfochromique
8. Bêchers de 100 ml
9. Eprouvettes graduées de 50 ml
10. Pipettes graduées
11. Pissettes
12. Entonnoir
13. Support élévateur

Réactifs :

- Solution saturée d'acide picrique à 15 g pour 1000 ML d'eau distillée
- Solution nitrochromique à 0,005N
- Solution de thiosulfate de sodium à 0,005N
- Solution d'iodure de potassium à 1g pour 1000 ML d'eau distillée

Recherche des benzodiazépines :

Recherche par colorimétrie :

Principe :

Coloration spécifique après hydrolyse acide et réaction avec un réactif spécifique à partir des urines.

Mode opératoire :

Mettre dans trois tubes à essai 1ml d'urine et 1 ml d'acide chlorhydrique 6N. Introduire les deux derniers au bain marie bouillant pendant 10 minutes, refroidir ces derniers sous un courant d'eau froid puis ajouter dans chaque tube 0,5 ml de sulfamates d'ammonium et 0,5 ml du réactif de Tréfouël.

Recherche par Chromatographie sur couche mince (CCM) :

Principe :

Les dérivés benzodiazépiniques et leurs métabolites présents dans les urines conduisent, par l'action hydrolysante de d'acide chlorhydrique et à 100°C, à la formation de dérivés qui, séparés par chromatographie sur couche mince, permettent l'identification partielle des benzodiazépines mais, surtout, le classement du composé absorbé en fonction de son activité thérapeutique.

Mode opératoire :

– Préparation des dérivés d'hydrolyses :

Dans un erlenmeyer de 250 ml bouchant émeri, placer 5 ml d'urines et 2 ml d'acide chlorhydrique (d= 1,18).

Porter le mélange pendant 5 minutes au bain marie à 100°C. Après refroidissement,

Extraire les produits d'hydrolyse par 10ml d'éther éthylique.

Après séparation, la phase étherée est lavée deux fois avec 5ml de solution aqueuse d'acide chlorhydrique N, puis deux fois avec 5 ml d'eau distillée.

Après déshydratation par agitation avec du sulfate de sodium anhydre, l'extrait étheré est évaporé.

La solution dans L'éthanol à 95° du résidu d'évaporation est soumise à l'analyse chromatographique.

Analyse chromatographique

1. Absorbant : Couche mince d'oxyde d'aluminium F 254 ; type F, Merk n° 5713/0025 « plaque prêtes à l'emploi conservées en dessiccateur».
2. Substance de référence : Benzophénone : 3/1.
3. Solvant de migration : – Benzène-chloroforme : 3/1.

– Migration : 10 à 12 cm

Révélation

- Sous lampe ultraviolette à 254 nm
- Réaction de diazocopulation :

Pulvériser sans excès une solution de nitrite de sodium à 0,5% dans l'acide chlorhydrique ($d=1,18$) au 1/10 (préparée extemporanément). Attendre 5 minutes.

Sécher la plaque sous un courant d'air tiède. Pulvériser enfin le réactif de Tréfouel « solution aqueuse à 0,1% de chlorhydrate de N-alpha naphthyl N, N-diéthylpropylène diamine ». Les spots correspondant aux amines aromatiques primaires apparaissent en quelques minutes colorés en violet.

La coloration s'intensifie plus rapidement en plaçant les plaques de chromatographie à $+50^{\circ}\text{C}$

Matériel :

- Tubes à essais
- Porte tubes à essais
- Pipettes
- Erlenmeyers de 10ml
- Erlenmeyers de 250 ml B.E
- Bêchers de 250 ml
- Bêchers de 100ml
- Ampoules à décantation
- Pipettes (types pasteur).
- Plaques recouvertes de Silicagel.
- Lampe ultraviolette.
- Entonnoirs

Réactifs

- Acide chlorhydrique pur ($d=1,18$).
- Ether éthylique.
- Acide chlorhydrique N.
- Sulfate de sodium anhydride.
- Ethanol à 95° .
- Nitrite de sodium à 0,5%.
- Réactif de tréfouel (solution aqueuse à 0,1% de chlorhydrate de N-alpha naphthyl N,N diéthylpropylène).
- Acide chlorhydrique 6N.
- Nitrite de sodium.
- Sulfamates d'ammonium.
- Réactif de Tréfouël (Solution aqueuse de chlorhydrate de N-alpha-

- Naphtyl N, N diethylpropylène à 0,1%

Identification des phénothiazines et imipramines par réactions colorimétriques

1. Principe :

Les phénothiazines sont des neuroleptiques de première génération. Les imipramines sont des antidépresseurs de première génération. Ce sont des molécules liposolubles extractibles par des solvants comme le dichlorométhane après alcalinisation des milieux biologiques. En solution dans l'acide phosphorique en présence de parabenziquinone, ils développent des colorations violette, rose et bleue. Ces réactions colorimétriques s'observent aussi avec le réactif F.P.N ou le réactif de FORREST par échange de cations.

2. Mode opératoire :

Extraction :

5ml d'urine ou liquide de LG.

1ml de soude.

5ml de dichlorométhane.

Agiter et laissez reposer.

Recueillir la phase organique sur du sulfate de sodium.

Caractérisation : dans un tube :

5ml de phase organique.

1ml d'acide phosphorique.

Agiter durant 1minute.

Ajouter 1ml de BENZOPARAQUINONE.

Agiter durant 30 secondes.

Résultat :

L'apparition dans la phase acide inférieure de colorations violacée (levomepromazine) et rose (chlorpromazine) indique la présence de dérivés de la phénothiazine.

Caractérisation de l'Amitriptylline par une réaction colorimétrique

1. Principe :

L'Amitriptylline et ses métabolites peu polaires sont extractibles par des solvants comme le dichlorométhane après alcalinisation des milieux biologiques. En solution dans l'acide sulfurique concentré, ils développent une coloration orangée.

2. Mode opératoire :

Extraction :

Dans une ampoule à décanter, alcalinisez 5 ml d'urines (ou liquide de lavage gastrique) par 1 ml de NaOH à 40%. Ajoutez 8 ml de dichlorométhane et agitez vigoureusement pendant 3 minutes. Après décantation, centrifugez la phase organique et lavez-la avec de l'eau distillée jusqu'à ce que la phase organique inférieure soit pratiquement limpide. Recueillir la phase organique dans une capsule en porcelaine blanche (à fond rond) et évaporez environ le cinquième du volume.

Caractérisation :

Ajoutez sur le résidu sec 3 ml d'acide sulfurique pur.

En présence de triptyllines, il se développe une intense coloration :

Rouge orangée (liquide de lavage gastrique).

Chromatographie en phase gazeuse (CPG) :

La chromatographie en phase gaz (CPG) permet la séparation de mélange rendu gazeux par une suite continue d'équilibre entre la phase mobile gazeuse et la phase fixe solide, situé à l'intérieur de la colonne. Il est important de noter que la CPG peut être utilisée pour tout composé susceptible d'être volatilisé par élévation de température. Il existe deux types de chromatographie en phase gazeuse :

Chromatographie gazeuse d'adsorption : phase stationnaire est un solide (gel de silice, Charbon actif, tamis moléculaire...). La séparation est déterminée par les propriétés adsorbantes du solide vis-à-vis de la substance à analyser.

Chromatographie gazeuse d'absorption : phase stationnaire est un liquide (PSL) fixé sous forme d'une couche mince ininterrompue sur la surface d'un porteur solide (support) inerte. La séparation est déterminée par les propriétés du liquide. Cette technique est la plus utilisée. Dans les deux cas, le gaz vecteur est le gaz qui véhicule les solutés ; la phase mobile est constituée du gaz vecteur et des solutés gazeux.

.1/ Principe d'une installation de CPG :

Un appareil de CPG réunit dans un bâti unique, outre les trois modules classiques, injecteur, colonne et détecteur, un four thermostaté qui permet de porter, si nécessaire, la colonne à une température élevée.

L'analyse débute à l'instant où on introduit une très petite quantité de l'échantillon, sous forme liquide ou gazeuse, dans l'injecteur, qui a la double fonction de le porter à l'état de vapeur et de l'amener dans le flux gazeux en tête de la colonne. Celle-ci se présente comme un tube de faible section enroulé sur lui-même, de 1 à plus de 100 m de longueur suivant les cas et contenant la phase stationnaire. Cette colonne est placée dans une enceinte à température régulée. Elle peut servir à des milliers d'injections successives. La phase gazeuse qui a traversé la colonne passe dans un détecteur avant de sortir à l'air libre.

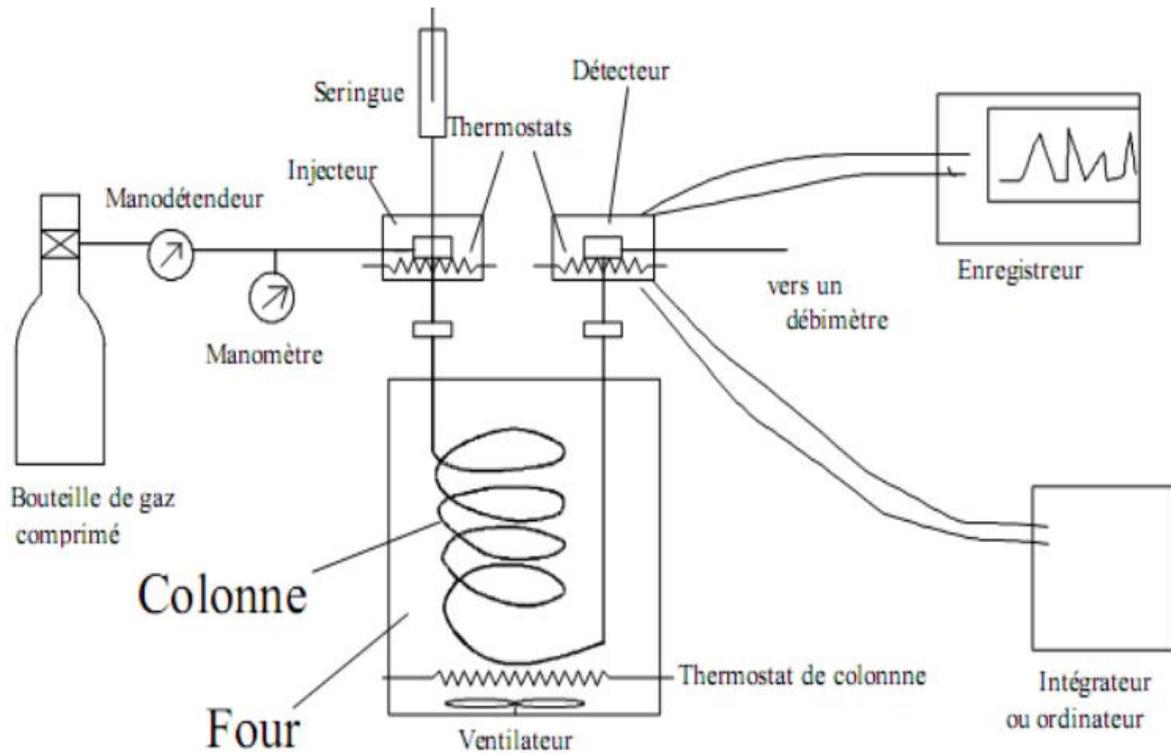


Schéma fonctionnel d'un appareil de CPG.

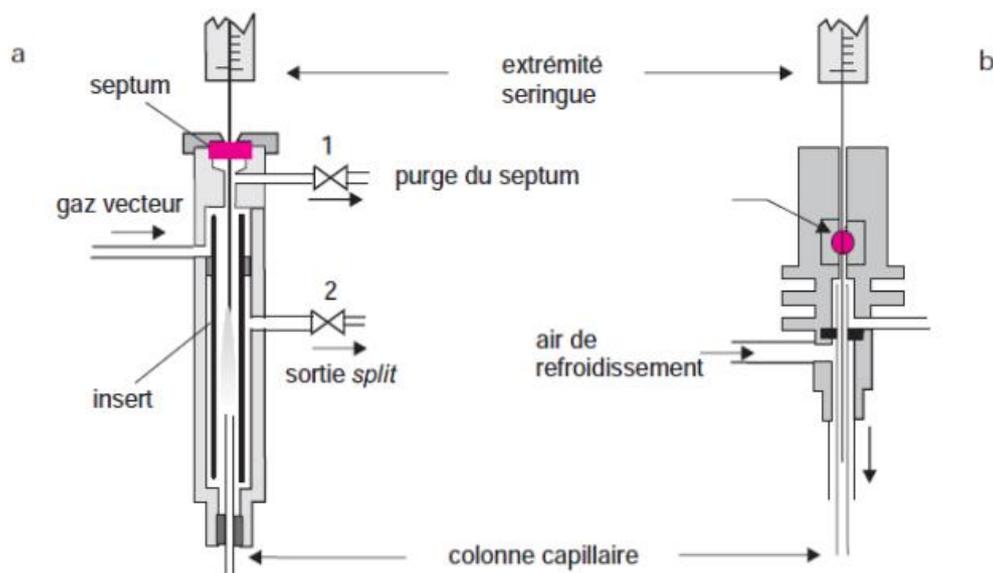
Un chromatographe est constitué en première approximation de trois organes essentiels :

- l'injecteur
- le détecteur
- la colonne

1/Injecteur :

Il permet d'introduire un liquide qui doit être vaporisé instantanément avant d'être transféré dans la colonne. Sa température doit être supérieure d'environ 20°C à la température du produit le moins volatil.

La figure suivante le représente: le gaz porteur, de préférence préchauffé, entre dans une chambre chauffée, obturée par une pastille d'élastomère, le septum, qui assure l'étanchéité. A l'aide d'une seringue hypodermique de petite capacité, on pique au travers du septum, afin que l'extrémité de l'aiguille arrive au-dessous du niveau de l'arrivée du gaz porteur, puis on pousse le piston pour réaliser l'injection.



- à gauche, chambre d'injection avec diviseur (la sortie 2 règle le *split*); à droite, injection à froid dans la colonne

schéma fonctionnel d'un Injecteur

-Il faut que la chambre d'injection ait un volume aussi petit que possible, pour limiter les volumes morts du chromatographe.

-D'autre part, si on observe des baisses de pression dans le circuit gazeux, cela indique souvent qu'il faut changer le septum, usé par les multiples injections.

Il ne faut pas oublier de nettoyer la seringue d'injection avec un solvant volatil après chaque injection, puis de la sécher convenablement.

2/Détecteur :

Il permet de mettre en évidence le passage des différents gaz séparés par la colonne. La détection peut être basée sur des techniques de mesures différentes. Le détecteur le plus utilisé en CPG est celui à conductibilité thermique appelé catharomètre. (Cas de notre chromatographe) Sa température est généralement la même que celle de l'injecteur.

1. Détecteur à conductibilité thermique - catharomètre

Principe :

Une résistance sensible à la température - tungstène, platine ou thermistance - est placée dans un flux gazeux. Un équilibre thermique est atteint quand le refroidissement de cette résistance provoqué par le passage du gaz vecteur compense son réchauffement au moyen d'un courant électrique. Cet équilibre est modifié par l'arrivée d'un soluté entraîné par le gaz vecteur (à condition que la conductibilité du soluté soit différente de celle du gaz

vecteur) car la capacité de refroidissement du mélange, différente de celle du gaz vecteur seul, entraîne une variation de la résistance. Cette résistance est un élément d'un pont de Wheatstone (figure 2.13) opposé à une autre résistance où ne circule que le gaz vecteur. Le déséquilibre de ce pont génère un signal qui indique la présence d'un soluté.

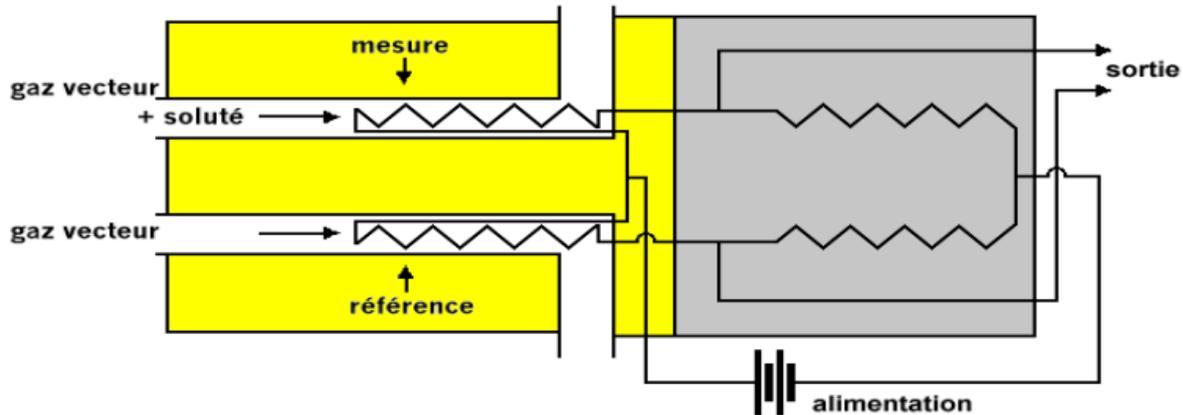


Figure 2.13: Détecteur à conductibilité thermique.

Caractéristiques:

- moyennement sensible;
- non destructif;
- économique et d'entretien facile;
- sensible aux changements de température et de débit.

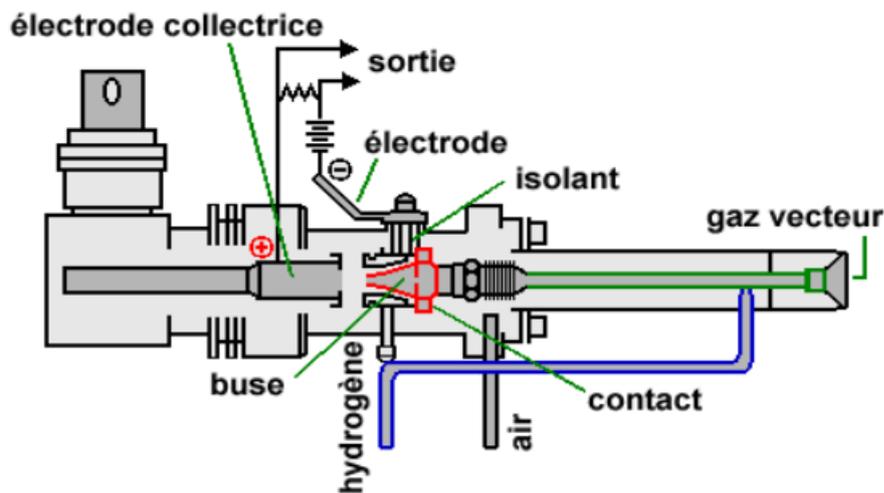
Un des inconvénients de ce détecteur réside dans le fait que la conductibilité thermique d'un mélange soluté-gaz vecteur n'est pas une fonction linéaire de la concentration. Mais le fait de travailler dans un domaine de très grande dilution et celui d'utiliser un gaz de très grande conductibilité thermique (tableau 2.6) comme He ou H₂ permettent de surmonter cette difficulté.

Conductibilité thermique par rapport à l'azote	à 100 °c
Hydrogène	6,95
Hélium	5,54
Méthane	1,72
Azote	1,00
Argon	0,71

2. Détecteur à ionisation de flamme

Principe :

Des ions sont formés par la flamme provenant de la combustion de l'hydrogène dans l'air. Si une substance carbonée (organique) est présente dans cette flamme, le nombre d'ions formés augmente considérablement. La buse du brûleur étant une des bornes d'un circuit et une électrode collectrice l'autre, les ions produits captés par cette dernière permettent le passage du courant et indiquent par le fait même la présence d'un soluté. La réponse du détecteur FID est proportionnelle à la masse du soluté qui passe dans le brûleur. Sa linéarité dépendrait plus de la géométrie du système que de la quantité injectée.



Détecteur à ionisation de flamme du modèle 8310 de la compagnie Perkin-Elmer

Caractéristiques:

- très sensible;
- montre une réponse linéaire en fonction de la masse de soluté;
- sensible aux changements de température et de débit;
- non sélectif
- universel;
- destructif
- les substances sont brûlées.

Les détecteurs décrits précédemment, bien qu'économiques et universels, ne donnent aucun renseignement sur la nature des substances détectées ; le temps de rétention n'étant pas une caractéristique spécifique d'un composé. Avec l'avènement de l'électronique moderne, il est possible maintenant de coupler des spectromètres aux chromatographes en phase gazeuse.

3. Détection par spectroscopie infrarouge

Cette détection peut se faire de deux façons. La première consiste en la condensation à froid de l'éluant gazeux sur du KBr et l'enregistrement des spectres des différents échantillons. Cette méthode, mieux adaptée aux appareils dispersifs ne permet pas d'obtenir le chromatogramme en temps réel. L'arrivée sur le marché des spectromètres à transformée de Fourier a permis de prendre les spectres des solutés pendant le temps de sortie des pics en faisant passer l'échantillon à travers un tube chauffé dans le faisceau infrarouge.

4. Détection par spectrométrie de masse

Le couplage du chromatographe et du spectromètre de masse est simplifié du fait de la nature de la phase mobile qui est gazeuse. Le problème réside dans les différences de pression qui existent entre les deux appareils ; le chromatographe fonctionnant à pression atmosphérique et le spectromètre de masse sous un vide très poussé. Pour maintenir ce vide dans les cas où le débit est relativement grand et pour éviter que le vide se fasse dans la colonne, on intercale un séparateur à jet moléculaire (figure 2.16).

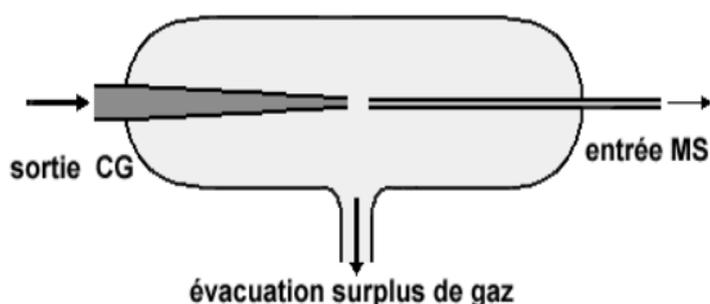


Figure 2.16 : Couplage entre le chromatographe en phase gazeuse et le spectromètre de masse par un séparateur à jet moléculaire chauffé pour éviter la condensation des substances éluées.

3/Colonne:

C'est l'organe principal. Elle est constituée d'un tube généralement métallique de diamètre intérieur de l'ordre du millimètre. Ce tube contient la phase stationnaire constituée par un liquide absorbant fixé sur un solide inerte (ex : brique pilée, alumine etc. Soigneusement calibrée).

On distingue les colonnes à remplissage proprement dit, constituées d'une tubulure en verre, acier ou autre métal (les plus fréquentes sont en acier inoxydables), dont les dimensions varient de 2 à 6 mm pour le diamètre intérieur et de 1 à 10 m pour la longueur. Le support

remplissant la colonne est constitué de grains dont les dimensions varient de 60 à 70 μm ; ils sont à base soit de matériau réfractaire soit de silice. La phase stationnaire est un liquide peu volatil, formant environ 10% de la masse du support non imprégné.

Par ailleurs, on utilise des colonnes capillaires, formées d'un tube de métal, de verre, de silice fondue ou de quartz, dont le diamètre intérieur est de l'ordre de 0,2 à 0,5 mm et la longueur de 50 à 100 m, ou davantage. L'adsorbant y est fixé sous forme d'une fine couche collée à la paroi du tube, ou bien la phase stationnaire est fixée en film mince, sans support, sur cette même paroi. Dans tous les cas, ces colonnes comportent un canal central largement ouvert, offrant peu de pertes de charge à la progression du gaz porteur.

La réussite d'une bonne séparation chromatographique dépend dans une large mesure du choix de la phase stationnaire. On distingue les phases apolaires et les phases polaires.

Les premières sont à base d'hydrocarbures aliphatiques saturés ou de silicones (squalane, apiezon,...). Les secondes sont des polymères possédant des fonctions polaires: polyols, polyesters, polyamides.

En général, les phases polaires retiennent plus les composés polaires, alors que ceux-ci sortent plus rapidement des colonnes apolaires que les composés du même nom.

Les adsorbants les plus classiques sont les adsorbants minéraux, tels le charbon actif, l'alumine, les tamis moléculaires. Ils sont pratiquement indispensables pour l'analyse des gaz, car ceux-ci sont peu solubles dans les phases stationnaires, et donc mal séparés par elles. Cependant, la désorption de ces gaz sur les adsorbants est lente, ce qui provoque généralement des traînées des pics.

On utilise aussi des adsorbants organiques à haut poids moléculaire. Ce sont des copolymères (du type styrène divinylbenzène). Ils ont l'avantage de permettre toutes sortes d'analyses

Performances des colonnes.

Une colonne à remplissage bien préparée peut atteindre une efficacité de l'ordre de 1 500 plateaux théoriques par mètre, soit HEPT = 0,66 mm (Voir cette notion dans l'annexe I).

Les colonnes capillaires atteignent facilement 2 000 à 10 000 plateaux théoriques par mètre, soit HEPT compris entre 0,5 et 0,1 mm.

On ne doit jamais effectuer d'analyse CPG sans avoir stabilisé l'ensemble de l'appareil en débit de gaz vecteur et en température pendant au moins deux heures.

En dehors des périodes d'utilisation, les colonnes doivent être bouchées pour éviter l'humidité pouvant se solubiliser dans la phase stationnaire, ainsi que l'oxydation de celle-ci.

La température de la colonne est en général inférieure de 20°C à celle du point d'ébullition du soluté le plus volatil. Plus la température de colonne est basse, meilleure est la séparation, mais cela risque d'allonger le temps d'analyse.

Le choix de la phase stationnaire conditionne la bonne séparation des constituants. Il faudra la choisir polaire ou apolaire en fonction de la nature des substances à séparer. Le gaz employé (phase mobile) est un gaz inerte (hélium ou azote).

Le gaz utilisé par notre installation est l'hélium. Ce gaz vecteur ou gaz porteur pousse les constituants à travers la colonne. En chaque point de cette dernière, il se produit un équilibre entre la fraction du constituant en phase stationnaire et en phase mobile. Il s'agit de chromatographie de partage.

L'ensemble des organes décrits ci-dessus est placé dans des enceintes thermo statées à des températures programmées selon la disposition des organes et la nature de l'échantillon à analyser.

Il existe deux types de colonnes avec des variantes (figure 2.4 et 2.5):

- colonnes remplies ou à garnissage (packed).
- colonnes capillaires (open tubular).

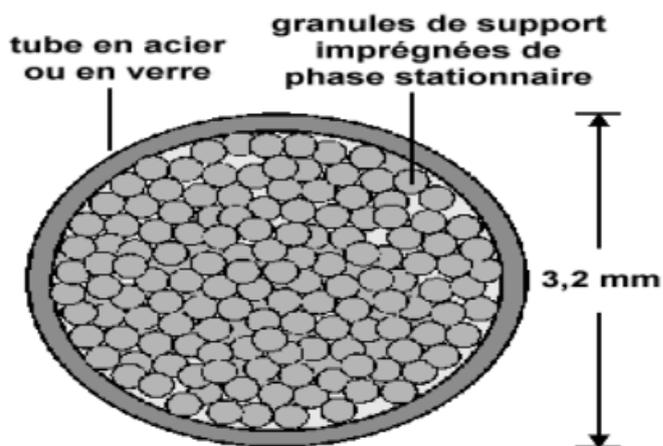


Figure 2.4 : Colonne remplie

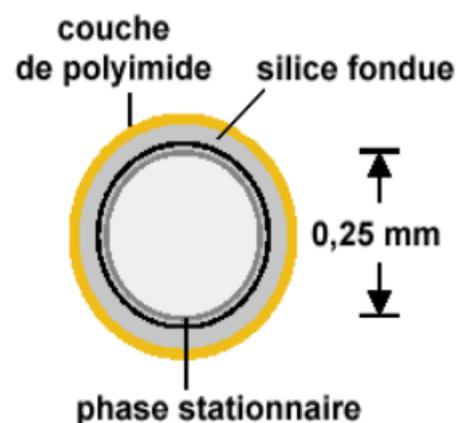


Figure 2.5 : Colonne capillaire.

Les représentations ne sont pas à l'échelle entre colonnes remplies et capillaires.

Caractéristiques des colonnes remplies ou à garnissage (packed) :

- diamètre interne : 1/8" (3,2 mm) ou 1/4" (6,4 mm).
- longueur : 0,5 à 3 mètres.
- tube : acier inoxydable.
- assez inerte et bon conducteur de chaleur verre.
- inerte mais mauvais conducteur de chaleur.

1. Garnissage pour chromatographie gaz-solide :

Granulé polymérique de gel de silice traitée à très haute température ou par un procédé hydrothermique par lequel il est possible d'obtenir des pores de dimensions voulues.

La surface de ce matériel poreux peut atteindre 500 m²/g. Polymère organique du type éthyl vinyl benzène-divinyl benzène qui possèdent des pores dont le diamètre varie de 0,0075 à 0,8 mm.

2. Garnissage pour chromatographie gaz-liquide :

Support solide de poreux et inerte imprégné d'un liquide non volatil appelé phase stationnaire qui peut être de nature diverse (voir plus loin).

Nature du support - surtout gel de silice

- provenant de terre de diatomées.
- peut être actif s'il possède beaucoup de groupements -Si-OH libres.
- peut être désactivé par réaction avec le dichlorodiméthylsilane ou le diméthylsiloxane.
- lavé à l'acide (acid washed) pour enlever les oxydes métalliques, en particulier les oxydes de fer.
- lavé par une base pour permettre la chromatographie de substances basiques.

L'efficacité des colonnes remplies (figure) est limitée 2,6 par:

- la dispersion des molécules du soluté dans les diverses trajectoires à travers les grains.
- la différence de rétention provenant du non uniformité de la répartition de la couche stationnaire sur les grains.

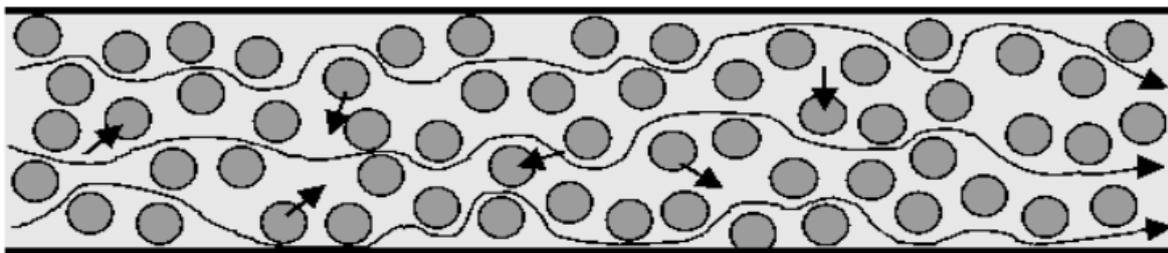


Figure 2.6

3. Caractéristiques des colonnes capillaires :

- diamètre interne : voir le tableau 2.1
- longueur : 15 à 100 mètres
- tube : silice fondue recouvert d'une mince couche de poly imide L'efficacité des colonnes capillaires (figure 2.7) ne dépend que de la vitesse de passage dans la phase stationnaire.

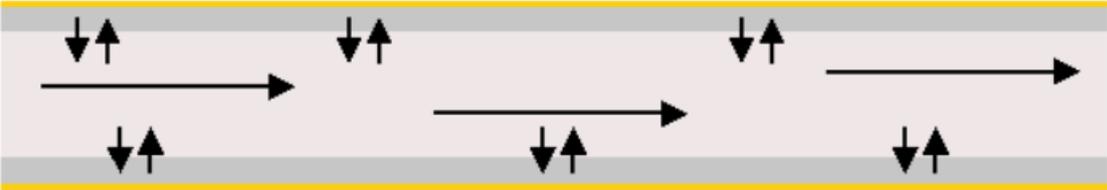


Figure 2.7

Tableau 07 :

Quelques caractéristiques des colonnes remplies et colonnes capillaires				
diamètre interne (mm)	capacité (ng)	plateaux théoriques par mètre	débit optimal (mL /minute)	
0,20	5-30	5000	0,40	
0,25	50-100	4170	0,70	
0,32	400-500	3330	1,40	
0,53	1000-2000	1670	2,50	
0,72	10000-15000	1170	5,00	
2,00b	20000	200	20	
b colonne rempli				

4. Choix des phases stationnaires :

Ce choix se fait en fonction de la nature des substances à séparer.

Tableau 08 :

Molécules	Exemples	Phases stationnaires
non-polaires liaisons C-H et C-C	hydrocarbures normaux (n-alcanes).	SPB-octyl
		Poly (dimethylsiloxane),SE-30
		SPB-5, PTE-5, SE-54
Polaires liaisons C-H et C-C liaisons C-Cl, -Br, -F liaisons C-N, -O, -P, - S	alcools, éthers, thiols, amines, acides carboxyliques, esters et cétones.	poly(methylphenylsiloxane)
		poly(cyanopropylméthylsiloxane)
		PEG, Carbowax 10, 20M

Polarisables liaisons C-H et C=C et acétyléniques	alcènes aromatiques	poly(cyanopropyl siloxane) poly(cyanopropylphénylsiloxane) TCEP
---	---------------------	---

Analyse qualitative en CPG:

Généralités :

Si on injecte un mélange de plusieurs liquides dans la colonne par l'intermédiaire de l'injecteur, ces liquides sont transformés en gaz, lesquels sont entraînés dans la colonne par le gaz vecteur.

La phase stationnaire selon sa constitution, va plus ou moins retenir sélectivement chacun des produits. Les vitesses de progression seront différentes pour chaque constituant. Nous arriverons ainsi à éluer le mélange, c'est à dire à séparer dans l'espace et dans le temps les différents composants du mélange.

On appelle coefficient de partage K pour un constituant X :

$$K = \frac{\text{Masse de constituant X par unité de volume de phase stationnaire}}{\text{Masse de constituant X par unité de volume de phase mobile}}$$

Ce coefficient de partage est un des paramètres qui conditionne la durée de parcours de la colonne par le constituant.

Si les autres paramètres (température, débit gazeux) sont constants, alors pour un mélange à analyser, la durée de parcours sera différente pour chaque constituant si leurs coefficients de partage sont différents.

Cette durée est appelée temps de rétention.

Moyennant un étalonnage préalable avec des produits purs, la CPG permet donc l'analyse qualitative des constituants d'un mélange.

Allure du chromatogramme

Un chromatogramme correct est composé de pics de forme symétrique, pas trop larges et bien séparés. C'est en jouant sur les conditions opératoires que l'on arrive à un tel chromatogramme.

A. Les facteurs favorables à une bonne séparation sont :

- des temps de rétention suffisamment différents (choix de la colonne)
- des pics peu élargis.

B. Différence entre temps de rétention :

Le principal paramètre est la différence entre les coefficients de partage de chaque constituant. Ce dernier dépend beaucoup de la température et de la longueur de la colonne.

Une diminution de la température du four entraîne

Une augmentation du temps de rétention. Une augmentation de la longueur de la colonne augmente les temps de rétention mais s'accompagne souvent d'un élargissement des pics.

C. Largeur des pics :

L'obtention de pics larges est due au fait que les multiples équilibres de répartition des constituants entre les deux phases (liquide et gazeuse) durant leur séjour dans la colonne, au lieu de s'établir sur une longueur extrêmement faible de la colonne s'établissent en fait sur une longueur non négligeable que l'on appelle plateau théorique.

.3. Analyse quantitative en C.P.G:

Une fois identifié(s) le (ou les) soluté(s) intéressant(s), le chromatogramme permet aussi une analyse quantitative grâce à la relation :

$$m_i = K_i A_i$$

m_i : masse du soluté i injecté
 A_i : aire du pic représentant ce soluté
 K_i : coefficient de proportionnalité

Il est donc nécessaire de déterminer pour chaque soluté la valeur de K_i qui dépend en outre du débit gazeux, de la température du détecteur ainsi que de l'intensité du courant qui le traverse.

a) Mesure de l'aire des pics :

On utilise essentiellement la triangulation manuelle et l'intégration automatique.

(C'est cette dernière méthode qui sera utilisée ici.) Quand les pics sont très pointus et très étroits, on peut se contenter des mesures des hauteurs H , alors proportionnelles aux aires.

b) Détermination du coefficient de proportionnalité :

Il est impossible avec les chromatographes courants de calculer le coefficient de proportionnalité par mesure directe de l'aire du pic enregistré quand on introduit une masse exacte, connue, d'un soluté d'un injecteur. Les seringues d'injection ne permettent pas de repérer le volume d'échantillon avec une précision suffisante. On aura donc recours à des méthodes d'étalonnage, qui, comme en analyse qualitative, feront de la chromatographie quantitative un procédé relatif vis-à-vis de substances connues. Voici les principales méthodes utilisées.

c) Normalisation interne :

On considère ici, en première approximation, que tous les K_i sont égaux (principalement dans les séries homologues telles qu'alcanes, alcools, etc...). On obtient alors les pourcentages en masse de chaque soluté de la manière suivante:

$$Y_i\% = \frac{A_i}{\sum A_i} \times 100$$

d) Méthode des ajouts dosés :

Le principe est le suivant: on prend d'abord le chromatogramme du mélange de solutés à étudier. Admettons que l'on cherche à déterminer le pourcentage en masse du composé n° 2. On va obtenir l'aire du pic correspondant A_2 , et l'on détermine également celle d'un pic voisin, par exemple A_3 . On pèse ensuite exactement une masse M de ce mélange voisine de 1g par exemple. Puis on y ajoute une masse m_0 du composé n°2, connue exactement, voisine de 300 mg environ. Le chromatogramme du nouveau mélange donne deux aires A_2' et A_3' .

Démontrons maintenant le résultat suivant:

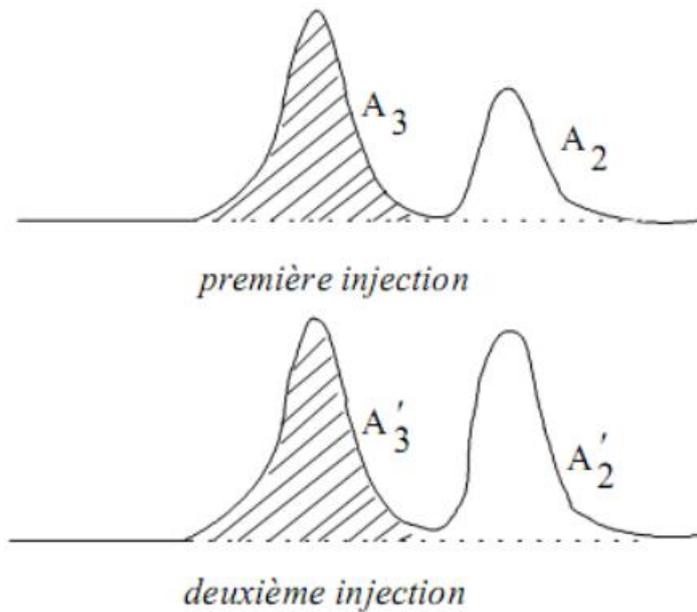
$$\% \text{ en masse} = \frac{m_0 \times 100}{M \left(\frac{A_2' \times A_3}{A_2 \times A_3'} - 1 \right)}$$

Soit M_0 la masse initiale de mélange, et m_{0i} les masses des divers constituants de ce mélange. On en pèse exactement une fraction M qui contient les masses m_i des constituants. Grâce à la seringue chromatographique, on injecte dans la colonne une masse μ contenant les masses μ_i des constituants. Nous allons nous intéresser aux constituants n°2 et n°3. Comme les rapports des masses des constituants d'un mélange se conservent dans toute fraction de ce mélange, il vient:

$$\frac{m_{02}}{M_0} = \frac{m_2}{M} = \frac{\mu_2}{\mu} \quad \text{et} \quad \frac{m_{03}}{M_0} = \frac{m_3}{M} = \frac{\mu_3}{\mu} \quad (1)$$

A la masse M pré pesée, on rajoute alors une masse m₀ pesée précisément de composé n°2. En appelant μ' la masse injectée et μ_i les masses des constituants de μ', il :

$$\frac{m_3}{M+m_0} = \frac{\mu_3}{\mu'} \quad \text{et} \quad \frac{m_2+m_0}{M+m_0} = \frac{\mu_2}{\mu'} \quad (2)$$



En admettant que tout ce qui a été injecté sort de la colonne, on a :

$$\mu_2 = K_2 \cdot A_2 \quad , \quad \mu'_2 = K_2 \cdot A'_2 \quad , \quad \mu_3 = K_3 \cdot A_3 \quad , \quad \mu'_3 = K_3 \cdot A'_3$$

D'où nous éliminons les constantes de proportionnalité:

$$\Rightarrow \frac{\mu_2}{\mu_3} = \frac{A_2}{A_3} \quad \text{et} \quad \frac{\mu'_2}{\mu'_3} = \frac{A'_2}{A'_3}$$

Le rapport de ces égalités donne:

$$\frac{\mu_2}{\mu_3} \times \frac{\mu'_3}{\mu'_2} = \frac{A_2}{A_3} \times \frac{A'_3}{A'_2} \quad (3)$$

(1) et (2) nous donnent d'autre part:

$$\frac{\mu'_3}{\mu'_2} = \frac{m_3}{m_2+m_0} \quad \text{et} \quad \frac{\mu_2}{\mu_3} = \frac{m_2}{m_3}$$

En combinant (3) et (4), nous obtenons une relation où seul m_2 est inconnu:

$$\frac{m_2}{m_3} \times \frac{m_3}{m_2 + m_0} = \frac{A_2}{A_2'} \times \frac{A_3'}{A_3} = \frac{m_2}{m_2 + m_0}$$
$$\Leftrightarrow m_2 = \frac{m_0}{\left(\frac{A_2' \times A_3}{A_2 \times A_3'} - 1 \right)}$$

Le pourcentage en masse de 2 dans le mélange est donc:

$$\% \text{age en masse} = \frac{m_0 \times 100}{M \times \left(\frac{A_2' \times A_3}{A_2 \times A_3'} - 1 \right)}$$

La méthode demande une bonne linéarité de la réponse du détecteur chromatographique, ce qui n'est pas toujours le cas. Nous supposons cependant que le détecteur utilisé en TP, le catharomètre, présente cette qualité.

Étalonnage interne

Dans cette méthode, on compare individuellement chacun des pics à évaluer au pic d'une substance étalon E, convenablement choisie, introduite en proportion connue dans le mélange à analyser. Il convient évidemment que le pic étalon ne soit confondu avec aucun des pics du chromatogramme.

On peut écrire:

$$m_e = K_e A_e \quad \text{soit:} \quad \frac{m_i}{m_e} = \frac{K_i}{K_e} \times \frac{A_i}{A_e} \quad ; \quad \text{On définit alors} \quad K_{i/e} = \frac{K_i}{K_e}$$

On calcule donc la réponse de chaque soluté concerné par rapport à l'étalon. La méthode est générale. Elle est précise et reproductible.

Elle suppose néanmoins le choix d'un étalon qui, outre la nécessité de ne pas chevaucher avec les autres solutés, doit donner un pic de valeur de rétention proche de celle du pic à mesurer, d'aire approximativement égale à celle du pic du soluté, et dont la réponse doit se situer dans la zone de linéarité du détecteur utilisé.

Dosage de l'alcool par CPG :

Présentation d'un dosage d'éthanol par CPG :

On dose l'éthanol d'alcools forts dits de "bouche" commercialisés de type eau de vie. Le dosage est réalisé par CPG à l'aide d'une **colonne capillaire wide bore 0,53 nm à phase greffée polaire**.

Le gaz vecteur est de **l'hydrogène**. Le détecteur est un détecteur à ionisation de flamme (FID). La colonne supporte les injections directes du produit à doser après dilution injection en mode division (mode "split") : le volume exact réellement injecté est peu reproductible.

2/ Etablissement d'une fonction d'étalonnage :

On va étalonner l'analyse avec une série d'étalons de concentrations variables en éthanol mais contenant aussi un autre étalon -l'étalon interne- en l'occurrence du méthyl-4 pentanol-2 pur.

Dans les conditions de l'analyse, on a montré que **l'éthanol** est parfaitement séparé de tous les autres constituants des alcools de bouche et élu vers **4 min**. Il en va de même pour le méthyl-4-pentanol-2 qui est absent des alcools de bouche à mesurer : il est parfaitement séparé de tous les autres constituants de l'alcool de bouche et élu vers 12 minutes. On réalise 4 mélanges étalons qui sont mesurés selon les indications du tableau suivant :

	mélange 1	mélange 2	mélange 3	mélange 4
éthanol absolu	0,125 mL	0,250 mL	0,500 mL	1,00 mL
Méthyl-4-pentanol-2 pur	0,500 mL	0,500 mL	0,500 mL	0,500 mL
Eau	qsp 100 Ml			
	Injection en mode division (split)			
Surface du pic éthanol (4 min)	123 767 u arb.	254 535 u arb.	522 948 u arb.	940 367 u arb.
Surface du pic méthyl-4-pentanol-2 pour (12 min)	900 123 u arb.	925 578 u arb.	968 547 u arb.	863 025 u arb.

Pour chaque pic éthanol mesuré, la surface (S_{et}) est proportionnelle à la quantité injectée (n_{et}) selon un coefficient de réponse caractéristique (k_{et}) :

$$n_{et} = k_{et} * S_{et} \quad (\text{relation (a)})$$

(En effet, la surface d'un pic est proportionnelle à la quantité de matière qui l'a déclenché.)

Pour chaque pic méthyl-4-pentanol-2 mesuré, la surface (S_i) est proportionnelle à la quantité injectée (n_i) selon un coefficient de réponse caractéristique (k_i) :

$$n_i = k_i * S_i \quad (\text{relation (b)})$$

On remarque que les surfaces obtenues pour le méthyl-4-pentanol-2 sont sensiblement différentes alors que la concentration en méthyl-4-pentanol-2 de tous les étalons est la même. Ceci est essentiellement lié au fait que le volume injecté (V_{inj}) dans la colonne est peu reproductible d'une manipulation à l'autre. Et c'est bien ce qui nous ennuie a priori pour pouvoir tracer une fonction d'étalonnage classique avec de simples solutions étalons d'éthanol!

Cependant pour une injection donnée (on injecte une même solution qui contient l'éthanol étalon et le méthyl-4-pentanol-2 étalon), les relations (a) et (b) donnent :

$$c_{et} * V_{inj} = k_{et} * S_{et} \quad (\text{où } c_{et} \text{ désigne la concentration en éthanol de la solution injectée}).$$

$$c_i * V_{inj} = k_i * S_i \quad (\text{où } c_i \text{ désigne la concentration en méthyl-4-pentanol-2 de la solution injectée}).$$

Établissons le rapport de ces 2 égalités, on obtient :

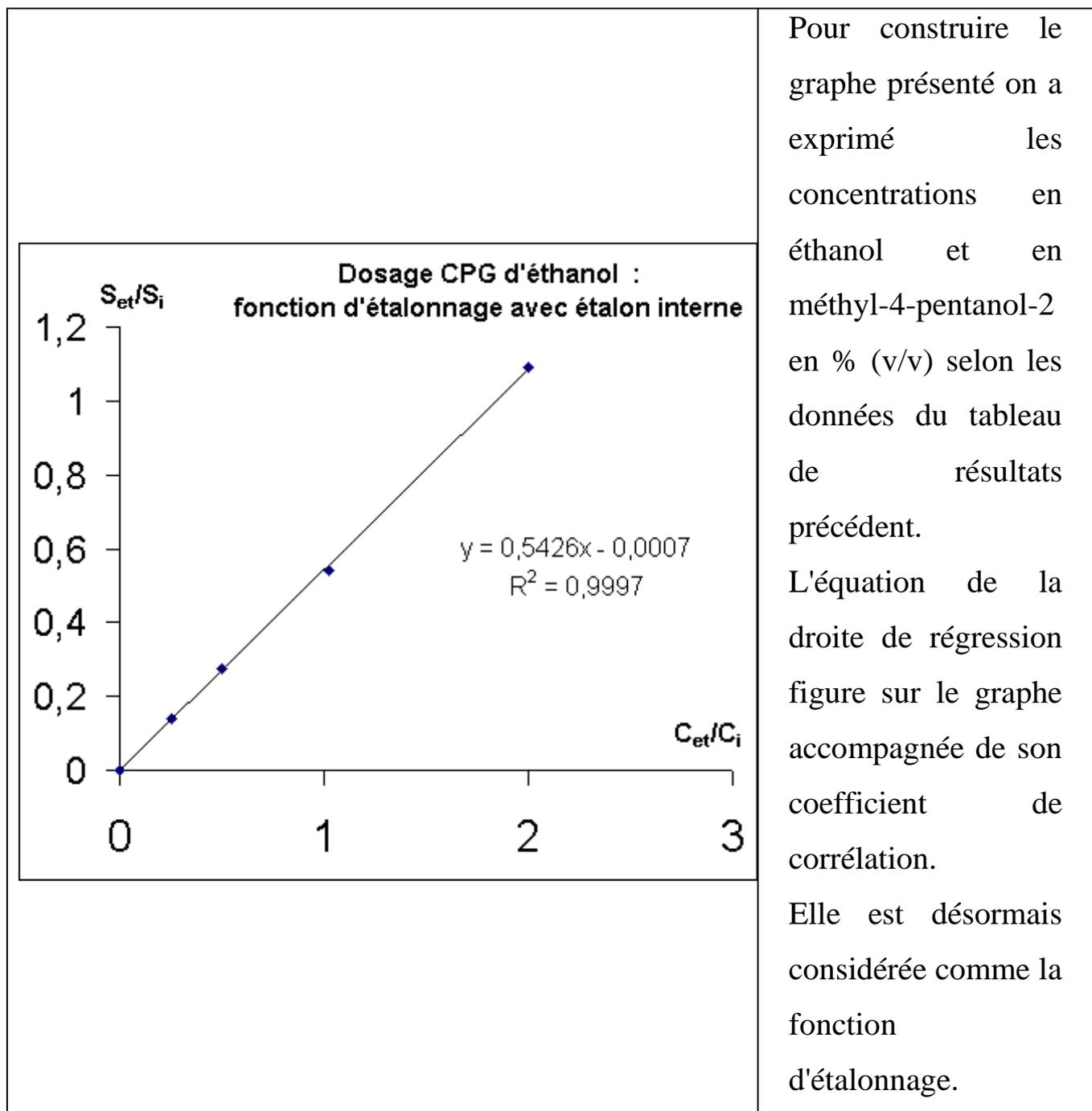
$$c_{et} / c_i = (k_{et} / k_i) * (S_{et} / S_i).$$

On obtient une relation donnant c_{et} qui ne dépend pas du volume injecté !!

Voilà donc la relation d'étalonnage intéressante et c'est :

$$(S_{et} / S_i) \text{ est proportionnel à } (c_{et} / c_i).$$

On se livre aux calculs, on trace $(S_{et} / S_i) = f(c_{et} / c_i)$; et on obtient :



4 /Mesures d'essais

On dispose donc d'une fonction d'étalonnage pour les essais.

Considérons un essai "rhum X" mesuré :

1 mL de rhum X" a été additionné de 0,5 mL d'étalon interne méthyl-4-pentanol-2 et le volume a été ajusté à 100 mL en fiole jaugée. L'analyse CPG dans les conditions de l'étalonnage donne un pic éthanol de surface $S_x = 500\ 172$ unités et un pic étalon interne de

Annexe

surface $S_i = 943\,624$ unités.

Le rapport des surfaces est de 0,5301. La fonction d'étalonnage associe cette valeur à un rapport de concentration de l'éthanol au méthyl-4-pentanol-2 de 0,9782.

La concentration en méthyl-4-pentanol-2 dans l'essai chromatographie était de 0,500 %. On en déduit donc une concentration en éthanol dans l'essai chromatographié de 0,49% (v/v).

Compte tenu de la dilution réalisée dans la fiole jaugée, on déduit :

$[\text{éthanol}]_{\text{rhum X}} = 49 \text{ \% (v/v)}$.

AN 7.1.5 : Prélèvement de cheveux : phase pré-analytique



- **Quantité** : les mèches prélevées doivent avoir un diamètre au moins égal à celui d'une mine de crayon. Une recherche de stupéfiants nécessite **2 à 3 mèches de cheveux**.
- **Prélèvement** : cheveux coupés avec des ciseaux au niveau du vertex postérieur (arrière de la tête), le plus près possible du cuir chevelu. Cette orientation doit être maintenue par une cordelette, nouée à environ 1 cm de la partie proximale (proche de la racine). Fixer chaque mèche sur une feuille de papier en mettant une étiquette (ou scotch) sur chaque bout de la cordelette (**ne pas scotcher directement sur les cheveux !**). La racine et l'extrémité doivent être clairement identifiées (marquer sur la feuille). Mettre la feuille dans une enveloppe et fermer la. Le verso de cette feuille peut être utilisé pour fixer les échantillons prélevés, selon les indications.
- **Matrices alternatives** : En cas d'absence de cheveux, des poils (poitrine, bras ou jambe) peuvent également être prélevés.
- Le préleveur doit interroger le sujet sur les éventuels **traitements cosmétiques** (spécialement coloration/décoloration) réalisés et le consigner sur sa demande (réquisition).
- **Conservation avant acheminement au laboratoire** : à température ambiante, dans un endroit sec et à l'abri de la lumière. La réfrigération est à proscrire.
- **Acheminement au laboratoire** : envoi postal ou par transporteur à température ambiante, quel que soit la durée de l'acheminement.





DEMANDE D'ANALYSES TOXICOLOGIQUES

<input type="checkbox"/> dédé Vivant ND'enregistrement:..... Nom :Né(e)le: Prénom : Sexe : <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F Adresse: Poids:..... kg Taille:.....cm	Analyses demandées par: Nom : Institution:..... Adresse:
--	--

1) TYPE D'ANALYSE	
Milieu biologiques : <input type="checkbox"/> Ethanolémie <input type="checkbox"/> Recherche de toxiques(drogues,médicaments)	Milieux non biologiques : <input type="checkbox"/> Produit chimiques <input type="checkbox"/> Autre :
Brève anamnèse ou description du cas:	

2/ ECHANTILLON(S) :

<i>Biologique</i>	<i>Autre</i>	
<input type="checkbox"/> sangnatif/sérum	<input type="checkbox"/> urine	<input type="checkbox"/> liquide Date /heure du prélèvement de sang,le __ à __
<input type="checkbox"/> sangfluorure	<input type="checkbox"/> muscle	<input type="checkbox"/> poudre
<input type="checkbox"/> sangEDTA	<input type="checkbox"/> cheveux	<input type="checkbox"/> plante Date / heure du prélèvement d'urine,le __ à __
<input type="checkbox"/> autre: _____	<input type="checkbox"/> salive	<input type="checkbox"/> autres :
	<input type="checkbox"/> frottisnasal	Date /heure des autres prélèvements,le __ à __

Cheveux : renseigner la fiche de renseignement dédiée aux prélèvements capillaires

3/ANALYSES DEMANDEES

TOXICOLOGIE Analyse général : <input type="checkbox"/> recherche général (drogue et médicaments) Analyse spécifique : (test de dépistage) : <input type="checkbox"/> amphetamine(ecstasy) <input type="checkbox"/> barbituriques(bzd) <input type="checkbox"/> cannabinoïdes <input type="checkbox"/> cocaïne <input type="checkbox"/> cyanure <input type="checkbox"/> CO <input type="checkbox"/> méthadone <input type="checkbox"/> éthylglucuronide	Analyse quantitatives : <input type="checkbox"/> Confirmation dépistage (urine) <input type="checkbox"/> éthanolémie (sang /muscle /autre) <input type="checkbox"/> amphetamine <input type="checkbox"/> BZD <input type="checkbox"/> cannabis (sang/cheveux) <input type="checkbox"/> cocaïne (urine/sang/ cheveux) <input type="checkbox"/> cyanure (urine /sang /cheveux) <input type="checkbox"/> LSD <input type="checkbox"/> opiacés (urine / sang /cheveux)	Biologie et métaux (ou métalloïdes) <input type="checkbox"/> AIAT (sérum) <input type="checkbox"/> ASAT <input type="checkbox"/> créatinine <input type="checkbox"/> métaux (sérum/sang /urine) <input type="checkbox"/> Zn <input type="checkbox"/> Cu <input type="checkbox"/> Se <input type="checkbox"/> Al <input type="checkbox"/> As <input type="checkbox"/> Hg <input type="checkbox"/> pb
---	--	---

Date:..... Signature :

Dr MILOUD ABID Dalila
MAHU en Toxicologie

Tlemcen, le 22/05/2023

A Monsieur le chef de département de pharmacie

Objet : Demande de prêt

J'ai l'honneur de solliciter votre bienveillance de bien vouloir m'accorder ma demande de prêt des équipements listés ci-dessous dans un cadre d'encadrement de mémoire de fin d'étude des internes en pharmacie et ce du 22 Mai au 15 octobre 2023, du laboratoire de toxicologie au service de toxicologie CHU Tlemcen

Dans l'attente veuillez agréer monsieur mes salutations sincères.

Un bain marie : 011897/EFM/12

Un pH mètre : 000145/EFM/10

Une balance de précision : 013285/EFM/14

L'intéressée

AF jusqu'au 20/10/2023
Dr. D MILLOUB-ABID
Maitre Assistante
en Toxicologie

Dr. D MILLOUB-ABID
Maitre Assistante
en Toxicologie



GLOSSAIRE

- 1) **Poisons** : sont des substances qui provoquent des blessures, des maladies ou la mort d'organismes par une réaction chimique, à l'échelle moléculaire. Cette définition exclut les agents physiques, même de petite taille (un caillot, une bulle d'air dans le sang, un courant électrique, une radiation, etc.).
- 2) **Intoxication** : est un ensemble de troubles du fonctionnement de l'organisme dus à l'absorption d'une substance étrangère, dite toxique, d'origine biologique, physique ou chimique.
- 3) **Toxicomanie** : intoxication volontaire avec un phénomène d'accoutumance et de dépendance (dont l'alcoolisme, le tabagisme, la cocaïnomanie, l'héroïnomanie, la morphinomanie, l'éthéromanie).
- 4) **Homicide** est l'action de tuer un être humain, qu'elle soit volontaire ou non.
- 5) **Suicide** : est l'acte délibéré de mettre fin à sa propre vie.
- 6) **Toxidrome** : est en fait un regroupement de signes et de symptômes qui caractérisent une intoxication par une classe spécifique de substances toxiques.
- 7) **Xénobiotique** : est une substance étrangère à l'organisme qui est capable d'interagir avec la cellule vivante.
- 8) **Hormone de croissance humaine (hGH)** : aussi appelée somatotrophine ou somatotropine, est une hormone produite naturellement par l'organisme. Elle est synthétisée et sécrétée par les cellules antéhypophysaires.
- 9) **Stéroïdes anabolisants** : sont des médicaments qui ressemblent à la testostérone, une hormone qui est produite dans les testicules des hommes et, en quantité moindre, dans les ovaires des femmes.
- 10) **Activateur continu du récepteur de l'érythropoïèse, ou CERA** : est une forme d'EPO de troisième génération.
- 11) **Érythropoïétine (EPO)** : est une hormone peptidique produite naturellement par le corps humain. Elle est libérée par les reins et agit sur la moelle osseuse pour stimuler la production de globules rouges.
- 12) **Léthargie** : État pathologique de sommeil profond et prolongé, sans fièvre ni infection, caractérisé par le fait que le malade est susceptible de parler quand on le réveille mais oublie ses propos et se rendort promptement.
- 13) **Ethylisme** : consommation régulière et excessive de boissons alcoolisées.
- 14) **Sniffer** : prendre de la drogue en l'inspirant par le nez.
- 15) **Diurétiques** : sont des médicaments qui favorisent l'élimination urinaire de l'eau et des sels minéraux.

Résumé :

La toxicologie est une discipline qui étudie la nature et les effets des sources toxiques dans l'organisme. La toxicologie médico-légale s'occupe particulièrement de la recherche, identification et quantification des substances toxiques chez les vivants et les cadavres pour répondre aux questions de la justice.

L'objectif principal de notre mémoire est l'installation de l'unité de toxicologie forensique du service de toxicologie CHU Tlemcen. Cette installation requiert principalement la mise au point et validation des techniques d'analyses qualitative et quantitative des différents types de toxiques : Dosage de l'alcool par la méthode de Cordebard, dosage de CO par la méthode de WOLFF, identification et/ou dosage des stupéfiants et préparation des fiches techniques de recherche et de renseignement pour le service et de dosage de toxique

L'unité de toxicologie médico-légale est fonctionnelle et reçoit des prélèvements médicolégaux pour rechercher les cause de décès et ou le dosage de l'éthanolémie par Cordebard, recherche qualitative de l'intoxication au CO et pour fournir une réponse fiable aux médecins légistes et enquêteurs.

Mots clés : toxicologie médico-légale, justice, alcool, monoxyde de carbone, stupéfiants

Abstract :

Toxicology is a discipline that studies the nature and effects of toxic sources in the body. Forensic toxicology is particularly concerned with the research, identification and quantification of toxic substances in living and corpses to answer the questions of justice .

The primary purpose of our submission is the installation of the CHU Tlemcen Toxicology Unit. This installation mainly requires the development and validation of techniques for qualitative and quantitative analysis of the different types of toxicants: Alcohol determination by the Cordebard method, CO determination by the WOLFF method, identification and/or dosing of narcotics and preparation of technical data sheets on research and information for the service and toxicity dosing.

The forensic toxicology unit is functional and receives forensic samples for cause of death and/or Cordebard assay of ethanolaemia, qualitative research of CO intoxication and to provide a reliable response to medical examiners and investigators.

Keywords: forensic toxicology, justice, alcohol, carbon monoxide, narcotics.

ملخص

علم السموم هو تخصص يدرس طبيعة وتأثيرات المصادر السامة في الجسم. يهتم علم السموم الشرعي بشكل خاص بالبحث والتعرف على المواد السامة في الأحياء والجثث وتقديرها كميًا للإجابة على أسئلة العدالة.

الغرض: الغرض الأساسي من تقديمنا هو تركيب وحدة علم السموم في المستشفى الجامعي تلمسان ويتطلب هذا التركيب في المقام الأول تطوير تقنيات التحليل النوعي والكمي لمختلف أنواع المواد السامة والتحقق من صحتها: تحديد الكحول بواسطة طريقة كوردبارد، وتحديد ثاني أكسيد الكربون بواسطة طريقة وولف وتحديد و/أو جرعات المخدرات وإعداد صحائف بيانات التحقيق ومعلومات في وحدة علم السموم واختبار السمية

الاستنتاج: تعمل وحدة علم السموم الشرعي وتتلقى عينات الطب الشرعي للبحث عن سبب الوفاة و/أو فحص كوردبارد للإيثانوليميا، والبحوث

النوعية لتسمم ثاني أكسيد الكربون ولتوفير استجابة موثوقة للفاحصين والمحققين الطبيين

الكلمات الرئيسية: علم السموم الشرعي، العدالة، الكحول، أول أكسيد الكربون، المخدرات