

**Méthodes validées pour le
dépistage biologique.
Intérêt, limites actuelles de
l'interprétation des résultats et
limites économiques.**

Marie-José ROYER-MORROT

Société Française Alcoologie 20 Mars 2013

Dépistage SPA

- **Médecine professionnelle**

- **Contexte**

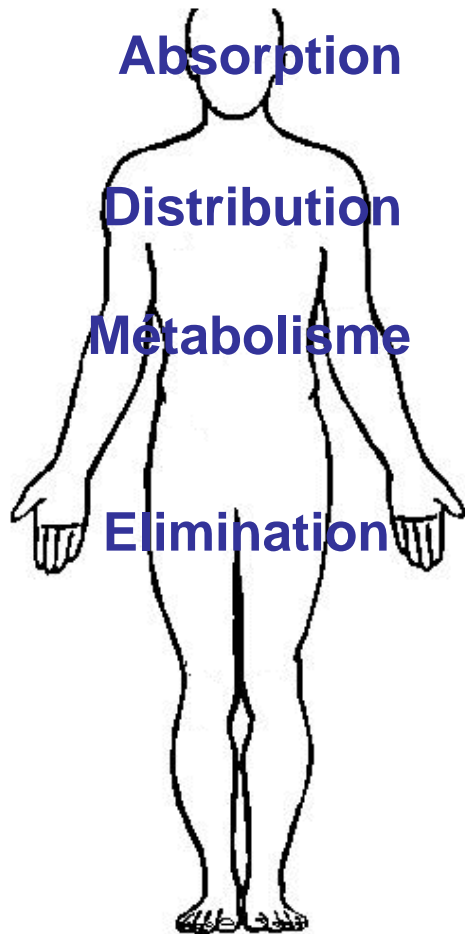
- **Choix milieu biologique**

- **Méthode d'analyse**

Faisabilité, rapidité, sensibilité, spécificité,
coût

- **Répondre à attente du clinicien**

Dépistage des SPA: Matrices Biologiques



- **Sang**
- **Urine**
- **Salive**
- **Air expiré**
- **Cheveux**
- **Sueur**

DEPISTAGE	Confirmation
------------------	---------------------

	Urines	Salive	<i>Sang</i>
Recueil	Pas pratique Flacon UU polystyrène (+4°)	Facile (contrôle visuel)	<i>Invasif</i> <i>Personnel</i> <i>médical</i>
Adultération	+++	-	-
Kit	+++	+	(+)
Détection majoritaire	Métabolites	Molécules mères	<i>Molécules</i> <i>mères,</i> <i>métab.</i>
Fenêtre détection	48h – pl. sem.	< 24h	< 24h – pl j.

Milieux Biologiques

- **Air expiré** / Alcool
- **Cheveux** / molécule mère majoritaire
 - Chronologie



KIT DE PRELEVEMENT CHEVEUX

Date du prélèvement : _____

Préleveur : _____

Intéressé(e) : _____ Signature

Longueur (cm) : _____

Traitement cosmétique : oui non

Kit prélèvement Chem Tox

- **Sueur** / molécule mère majoritaire
 - plusieurs jours
 - Contamination

Alcool

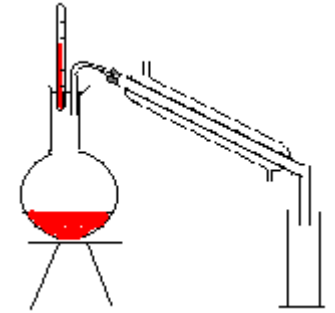


- 1 verre standard ~ 10 gr alcool pur
- Relation entre concentration sang – effets
- V_d H: 0.7 L/Kg; F: 0.6 L/Kg
- Décroissance dans sang: moy. **0.16 g/L/h**
[0.12 – 0.5 g/L/h]

Marqueurs Biologiques de la consommation alcoolique

- **Marqueurs directs** – Usage à risque
 - Ethanol
 - Ethylglucuronide (EtG)
- **Marqueurs indirects** – Usage nocif
 - VGM
 - γ GT, ALAT, ASAT
 - CDT

Dosage d'éthanol dans le sang



➤ Prélèvement sur NaF

• Méthodes Officielles

- **Méthode de Cordebard** (distillation, oxydation).
Arrêté du 27 Septembre 1972 – J.O. 30 Novembre 1972
- **Chromatographie Phase gazeuse**. Arrêté du 06 Mars 1986 – J.O. 16 Mars 1986

• Méthode Non Officielle

- Méthode enzymatique (utilisée uniquement en clinique)

Ethanol dans l'air expiré

▪ Dépistage Ethylotests - Alcootests

Catégorie A / seuil

Catégorie B / concentration



FAUX POSITIF

FAUX NEGATIF (A)

▪ Dosage Ethylomètres

Réponse: Concentration

Autorisé par la loi

Soumis à un contrôle annuel par le service des poids et mesures

Interférences de composés volatils ?

Pas interférence de l'acétone



Marqueurs de la consommation d'éthanol

	Matrices	Sensibilité %	Spécificité %	Délai détection /normalisation
Ethanol	Sang, urine, air expiré	100	100	qq heures
EtG	Sang		100	< 1 jour
	Urine		100	2 – 5 jours
	Cheveux	Seuil meth.	100	fct longueur
VGM	Sang	35-75	40- 90	2-3 mois
γGT	Sérum	35-90	35- 75	15 jours
CDT	Sang, sérum	50-95	80-100	3 semaines

D'après Kintz et coll. ATA 2009; 21(1):21-25.

Marqueurs de l' alcoolisme

Choix marqueur – Question

- **EtG / buveur social – buveur excessif**
- **CDT / suivi d'abstinence 1 fois/mois**
- **γ GT sérique / dépistage large échelle**

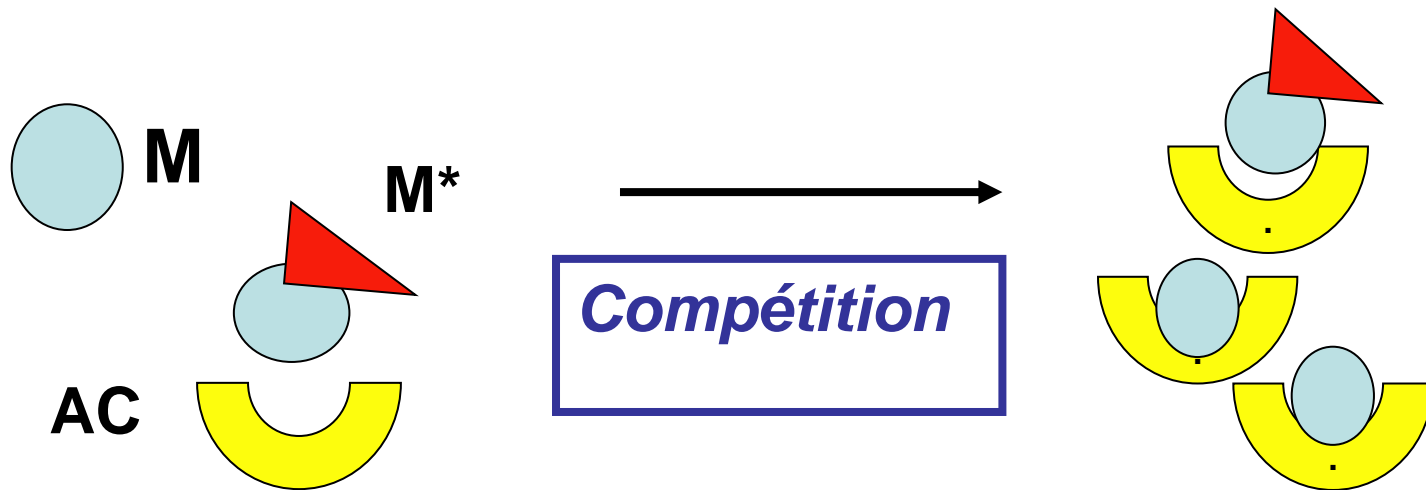
D'après Kintz et coll. ATA 2009; 21:21-25

Pas de diagnostic biologique de la dépendance

Drogues et substances illicites

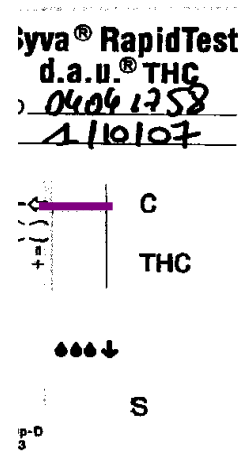
Médicaments Psychotropes

Méthodes Dépistage: ImmunoChimie



Tests non instrumentaux - Immunochromatographie

- Urine



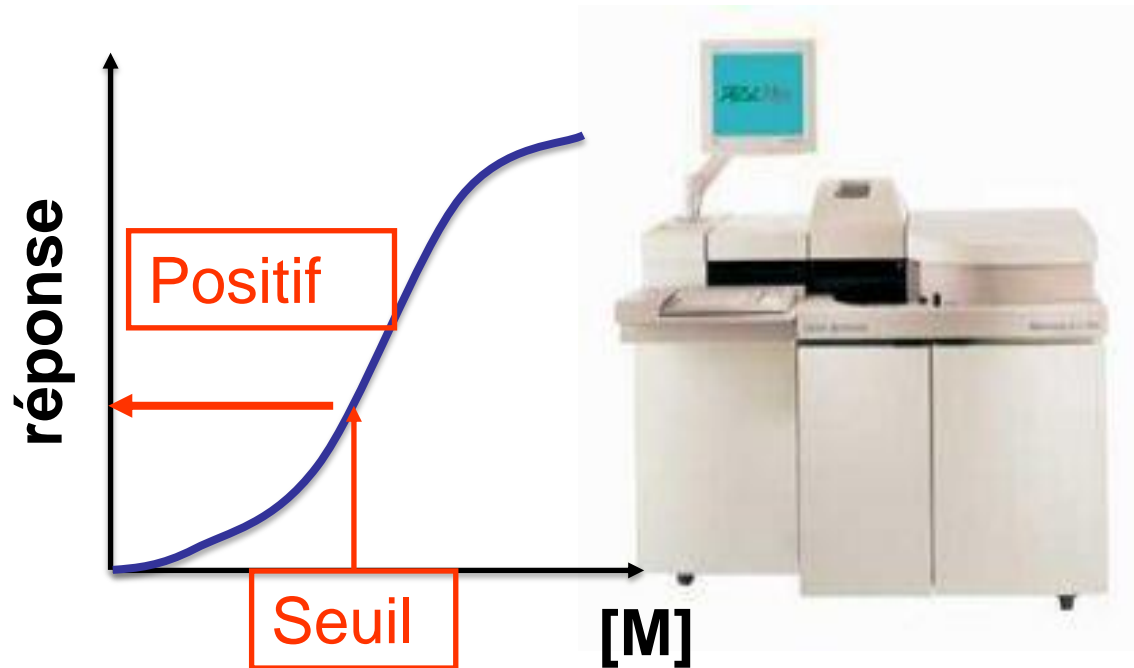
- Salive



RapidStat®

(Mavand – Biotech rt Detect, Rubelles, France)

Méthodes Dépistage: Automates multiparamétriques



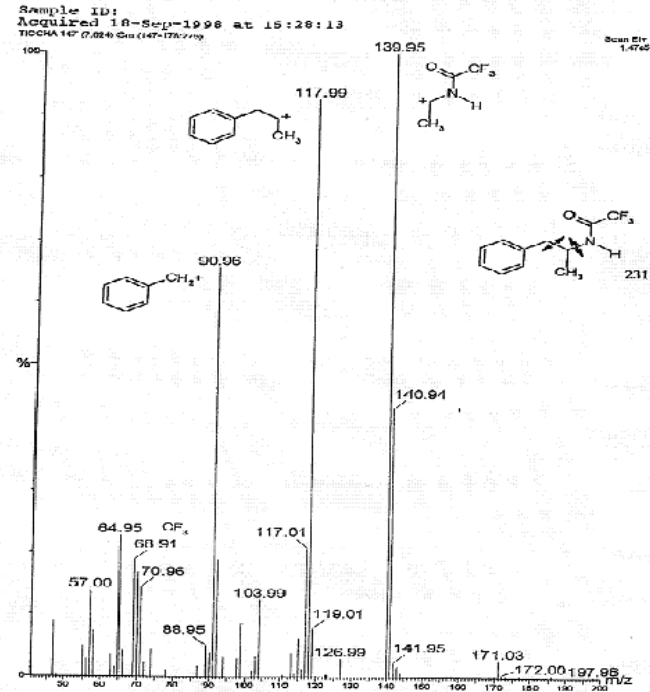
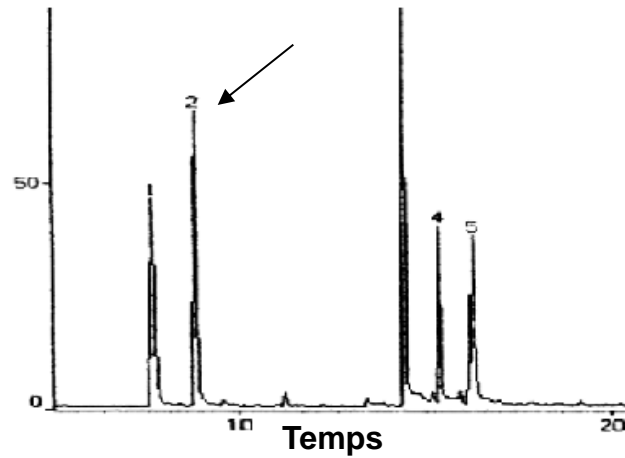
Méthodes immunochimiques: Réponse « **POSITIF** », « **NEGATIF** »

- **Dépistage Qualitatif**
 - Seuil Positivité ou cut-off
- **Spécificité** réaction Ag_AC
 - **Faux Positifs**
 - Réactions avec structures moléculaires proches (amphétamines), éloignées (AINS et cannabis)
 - **Faux Négatifs**
 - Défaut de réaction Ag_AC
- **Confirmation** par techniques séparatives

Méthodes de confirmation



CPG SM



Amphétamine

Recommandations SFTA 1996

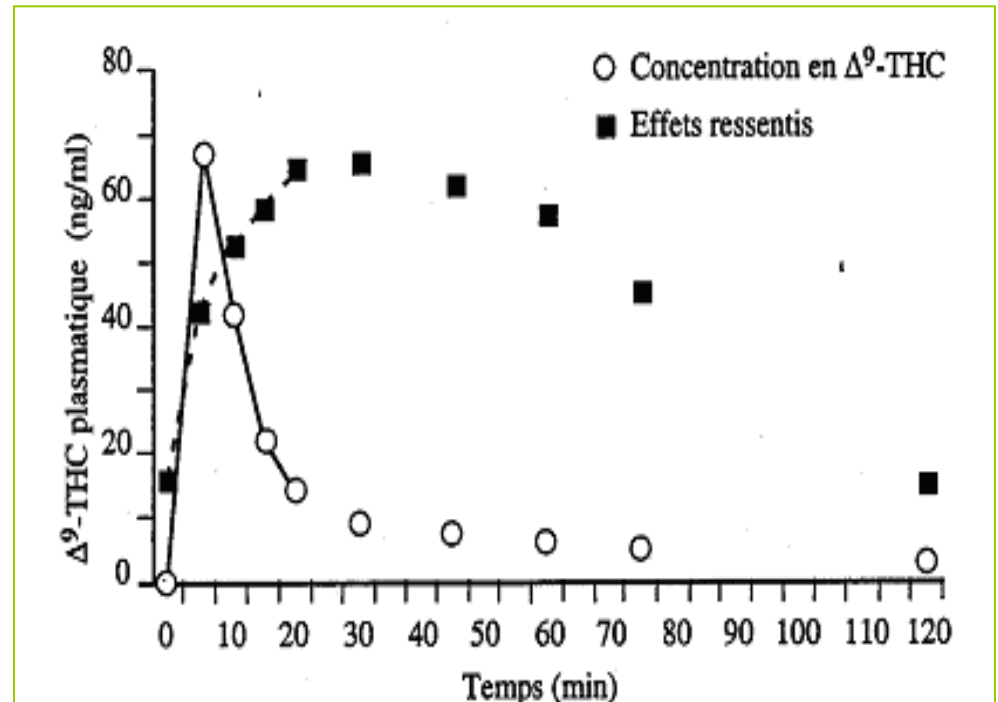
Interprétation résultats - Matrice

- **Sang**
 - Présence – Consommation récente
 - Sujet sous influence?
- **Urine**
 - Recherche consommation SPA sans préjuger niveau influence
- **Salive**
 - Présence salive – Présence sang (pas corrélation concentrations)
- **Cheveux**
 - Etude rétrospective par analyse segmentaire

Cannabis



- THC, acide faible, très lipophile
- F 6 – 56%
- Vd 4 – 14 L/kg
- $t_{1/2}$ 1 – 4 jours
consommateur régulier



D'après Cochetto et al.
Psychopharmacology 1981; 75: 158-164

Dépistage Cannabis

- **Salive/ Rapidstat®** seuil 15 µg/L THC
- *Seuil recommandé 4 µg/L* (SAMHSA Substance Abuse and Mental Health Service Administration)

Fiabilité test salivaire / *confirmation GC-MS prélèvement de sang:*

Etude Mura (2010)

Dépistage salivaire positif (n=740) **10.1% Faux Positif**

Étude Perrin *et al.* (ATA 2012; 24(3): 129-137)

Centre	n	VPP
CHRU Lille	283	92%
IRCGN*	617	97%

*Institut de recherche criminelle de la gendarmerie nationale

Dépistage Cannabis

➤ **Urine (seuil 20 – 50 µg/L)**

➤ / interférences – **FAUX POSITIFS**

acide niflumique, ibuprofène

Methoxyisoflavone (complément alimentaire bodybildeurs)

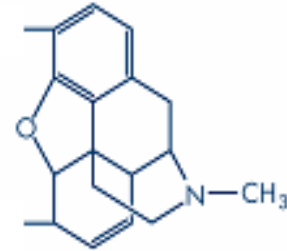
- **Confirmation CPG-SM des** résultats POSITIFS par quantification dans le sang

Fumeur passif

- Pièce non aérée, plusieurs fumeurs, plusieurs joints
 - **Urine**
 - THC-COOH 6-20 µg/L
 - **dépistage négatif au seuil 50 µg/L**
 - **Salive**
 - THC 4-26 µg/L pendant 30 min après l'expérience
(chez le fumeur dépistage positif > 4h après expérience)

Dépistage Opiacés

URINE



Recherche des opiacés par immunochimie

Dépistage **NÉGATIF**

Opioides synthétiques ??

Recherche spécifique :
Buprénorphine
Méthadone
Tramadol...

Dépistage **POSITIF**
Faux+ Quinolones

Présence d'opiacés

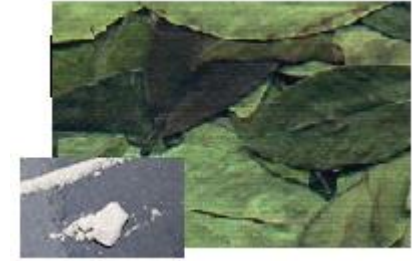
Identification par GC-MS
(MAM, Morphine, Codéine,
Codéthylène, Pholcodine)
Nalorphine positive test
Oxycodone réactivité 1-2%

Opiacés



Molécules	Demi-vie	Fenêtre détection (MS)	
		Urine	Salive
Héroïne	4 - 6 min	Non détectée	< 1 h
MAM	9 - 15 min	~ 7 heures	1 - 4 h
Morphine	1 - 3 h	12 - 48 h	< 12 h
Codéine	2 - 4 h	24 - 48 h	9 - 12 h
Codéthyline	2 h	24 h	
Pholcodine	37 h	11 - 20 jours	

Cocaïne

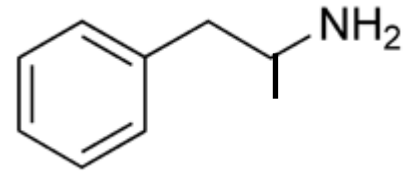


- Augmentation de la consommation chez adultes jeunes et adolescents
- Prises de quelques dizaines mg à 10 g/24h fonction degré accoutumance

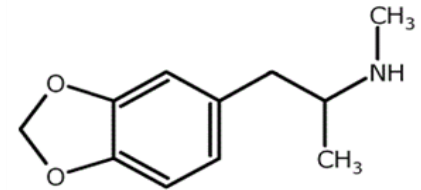
Molécules	% urine	Temps apparition	Temps élimination
Cocaïne	2 - 3	1.5 h	10 h
Benzoylecgonine	14 - 17	7.5 h	50 – 80 h
Methylecgonine	12	3.6 h	30 – 40 h

Dépistage des amphétamines

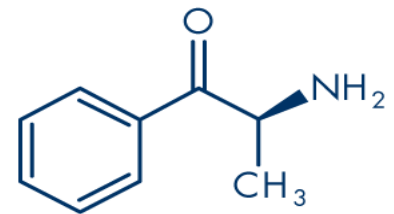
- Tests urinaires / immunochimie
- **Spécificité faible**
 - Faux « **NEGATIF** »
 - Faux « **POSITIF** »
 - Analogues structuraux (phénothiazines, miansérine, chloroquine, fonzylane...)
 - Amines produits conservation des urines
- Confirmer par une méthode séparative les résultats positifs



Amphétamine



MDMA



Cathinone

Recommandations Dépistage Biologique des SPA

- ***À la date de la rédaction de ces recommandations (2012), les méthodes validées reposent sur le prélèvement de sang (sang total ou sérum) ou d'urine. Insuffisamment fiables, les tests salivaires ne peuvent pas être recommandés.***

Recommandations Dépistage Biologique des SPA

- ***Le coût d'un dépistage ne se limitant pas à ces seuls actes, des études devraient être menées en s'appuyant sur une méthodologie rigoureuse incluant les effets potentiels des dépistages, leur fiabilité (faux positifs ou vrais négatifs), etc.***

Recommandations Dépistage Biologique des SPA

- ***Il est recommandé que le médecin du travail se rapproche des biologistes pour l'interprétation des résultats.***