

UNIVERSITÉ DE LIMOGES

FACULTÉ DE PHARMACIE

\*\*\*\*\*

Année 2012

Thèse n°.....

**STRATÉGIE ANALYTIQUE  
LORS DE LA PRISE EN CHARGE DES CAS DE  
SOUMISSION CHIMIQUE**

**THÈSE**

**POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**obtenue après soutenance du**

**MÉMOIRE**

**du Diplôme d'Études Spécialisées de Pharmacie Hospitalière et des Collectivités**

présentée et soutenue publiquement le 12 octobre 2012

par

**Julie Maublanc**

née le 06 juin 1985, à Limoges

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

Monsieur le Professeur Gérard LACHATRE..... Président

Monsieur le Professeur Alain PINEAU..... Juge

Monsieur le Docteur Jean-michel GAULIER ..... Directeur de thèse

Monsieur le Docteur Sylvain DULAURENT ..... Juge

DOYEN DE LA FACULTE : Monsieur le Professeur Jean-Luc **DUROUX**  
1<sup>er</sup> VICE-DOYEN : Madame Catherine **FAGNERE**, Maître de Conférences  
2<sup>ème</sup> VICE-DOYEN : Monsieur Serge **BATTU**, Maître de Conférences

**PROFESSEURS** :

<b>BENEYTOU</b> Jean-Louis	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
<b>BOTINEAU</b> Michel	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE
<b>BROSSARD</b> Claude	PHARMACOTECHNIE
<b>BUXERAUD</b> Jacques	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
<b>CARDOT</b> Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
<b>CHULIA</b> Albert	PHARMACOGNOSIE
<b>CHULIA</b> Dominique	PHARMACOTECHNIE
<b>DELAGE</b> Christiane	CHIMIE GENERALE ET MINERALE
<b>DESMOULIERE</b> Alexis	PHYSIOLOGIE
<b>DREYFUSS</b> Gilles	MICROBIOLOGIE-PARASITOLOGIE-IMMUNOLOGIE
<b>DUROUX</b> Jean-Luc	BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE
<b>LOUDART</b> Nicole	PHARMACOLOGIE
<b>ROUSSEAU</b> Annick	BIOSTATISTIQUE

**PROFESSEURS DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS DES DISCIPLINES**

**PHARMACEUTIQUES** :

<b>LACHATRE</b> Gérard	TOXICOLOGIE
<b>MOESCH</b> Christian	HYGIENE-HYDROLOGIE-ENVIRONNEMENT
<b>ROGEZ</b> Sylvie	BACTERIOLOGIE ET VIROLOGIE

**MAITRES DE CONFERENCES** :

<b>BASLY</b> Jean-Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
<b>BATTU</b> Serge	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
<b>BEAUBRUN-GIRY</b> Karine	PHARMACOTECHNIE
<b>BILLET</b> Fabrice	PHYSIOLOGIE

<b>CALLISTE</b> Claude	BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE
<b>CLEDAT</b> Dominique	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
<b>COMBY</b> Francis	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
<b>COURTIOUX</b> Bertrand	PHARMACOLOGIE, PARASITOLOGIE
<b>DELEBASSEE</b> Sylvie	MICROBIOLOGIE-PARASITOLOGIE-IMMUNOLOGIE
<b>DEMIOT</b> Claire-Elise	PHARMACOLOGIE
<b>FAGNERE</b> Catherine	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
<b>FROISSARD</b> Didier	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE
<b>JAMBUT</b> Anne-Catherine	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
<b>LABROUSSE</b> Pascal	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE
<b>LEGER</b> David	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
<b>LIAGRE</b> Bertrand	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
<b>LOTFI</b> Hayat	TOXICOLOGIE
<b>MARION-THORE</b> Sandrine	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
<b>MARRE-FOURNIER</b> Françoise	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
<b>MILLOT</b> Marion	PHARMACOGNOSIE
<b>MOREAU</b> Jeanne	MICROBIOLOGIE-PARASITOLOGIE-IMMUNOLOGIE
<b>POUGET</b> Christelle	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
<b>SIMON</b> Alain	CHIMIE GENERALE ET MINERALE
<b>TROUILLAS</b> Patrick	BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE
<b>VIANA</b> Marylène	PHARMACOTECHNIE
<b>VIGNOLES</b> Philippe	BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE

**PROFESSEUR CERTIFIE :**

<b>MARBOUTY</b> Jean-Michel	ANGLAIS
-----------------------------	---------

**ASSISTANT HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES :**

<b>IMBERT</b> Laurent	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
-----------------------	-----------------------------------

## REMERCIEMENTS

---

Je tiens à remercier ...

Monsieur le Professeur Gérard LACHATRE, de m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider ce jury. Merci de m'avoir communiqué votre passion dès la première minute de vos cours et de m'avoir fait partager vos connaissances et votre expérience au cours de mes études puis de mon internat. Je vous suis reconnaissante de m'avoir conseillée et guidée tout au long de mon cursus. Vous êtes et demeurerez mon mentor.

Je tiens à vous exprimer ma profonde gratitude.

Monsieur le Professeur Alain PINEAU, d'avoir accepté de juger ce travail et de me faire l'honneur de siéger dans ce jury.

Je vous adresse mes sincères remerciements.

Monsieur le Docteur Jean-Michel GAULIER, d'avoir accepté de diriger ce travail, ainsi que tous les précédents, de m'avoir consacré autant de temps et fait partagé ton expérience pendant ces quatre années d'internat. Tu m'as aidée à sortir de la théorie pour ouvrir mon esprit à la réalité de la toxicologie médico-légale.

Quelques lignes sont trop courtes pour exprimer tout ce que je te dois : merci infiniment pour ton encadrement, tes conseils précieux, ton écoute, ta gentillesse et ta bienveillance à mon égard.

Monsieur le Docteur Sylvain DULAURENT, d'avoir accepté de participer à ce jury et d'avoir apporté une contribution précieuse à ce travail.

Merci pour tes conseils et ta disponibilité.

Je tiens par ailleurs à remercier l'ensemble du personnel du service de pharmacologie, toxicologie et pharmacovigilance du CHU de Limoges et plus particulièrement les techniciens du secteur médico-légal.

Merci pour votre accueil chaleureux dès mon externat, les connaissances de chimie analytique que vous m'avez transmises et dont j'avais bien besoin et les rires partagés au cours de ces années passées en votre compagnie. Je n'aurais jamais imaginé qu'il était possible de travailler dans une telle bonne humeur.

Je remercie encore plus particulièrement Julien MORICHON, qui s'est presque investi autant que moi dans le développement des méthodes « psychotropes ». Cette thèse n'aurait pu aboutir sans tes bonnes idées, tes conseils et tes encouragements.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance à Mademoiselle Madeleine JAVERLIAT et tout le personnel de la Pharmacie à Usage Intérieur du CHU de Limoges pour m'avoir accueillie pendant un an et demi et donné l'occasion de diversifier ma formation tout en me permettant d'effectuer un master.

Je tiens également à adresser un immense merci à :

Mes parents,

Il est évident de dire que je n'en serais pas là sans vous, mais je tiens à vous remercier à nouveau de m'avoir toujours tout donné et offert les meilleures conditions pour étudier. Beaucoup disent que j'ai manqué quelque chose sans frères et sœurs, mais égoïstement, je suis ravie de ne pas avoir eu à partager des parents aussi formidables que vous.

Et surtout, comme promis, merci maman pour la réalisation quasi-intégrale de mon herbier de 3<sup>ème</sup> année de pharmacie.

Valentin,

Pour tout ce que tu m'apportes depuis plus de huit ans : ton amour bien sûr, mais aussi tes encouragements qui me poussent à me dépasser et ton humour. Merci d'être toujours à mes côtés, de me soutenir malgré tous les mouvements d'humeur que je t'ai fait subir pendant mes études, et d'être prêt à en supporter davantage. Le meilleur pour nous est encore à venir....

Toute ma famille,

Pour votre soutien sans faille depuis ma naissance et la confiance que vous m'avez toujours témoignée. Vous êtes ma motivation. Vous retrouver lors des repas de famille constitue chaque fois un réel bonheur et un moment de détente chaleureux au milieu de ces études prenantes.

Mes amis,

Où que nous nous soyons rencontrés, de la cour de l'école maternelle à la terrasse de l'internat. Je suis consciente de mon immense chance de pouvoir affirmer que je compte beaucoup de vrais amis. Merci pour ce que chacun d'entre vous m'apporte, le soutien que vous m'avez témoigné et pour tous les souvenirs partagés. J'espère que ce n'était qu'un début ! Peu importe la distance qui peut nous séparer, vous comptez tous énormément pour moi.

# SOMMAIRE

---

LISTE DES ABRÉVIATIONS	8
INTRODUCTION	10
I. GÉNÉRALITÉS SUR LA SOUMISSION CHIMIQUE	13
I.1. Profil type d'une substance de soumission chimique	13
I.1.1. Les effets recherchés	13
I.1.2. Les caractéristiques d'une substance « idéale »	16
I.2. Substances utilisées	19
I.3. La prise en charge médicale des victimes supposées de soumission chimique	21
I.3.1. Pour une prise en charge optimale	21
I.3.2. Les prélèvements biologiques nécessaires à la mise en évidence de l'agent de soumission chimique	22
II. TRAVAIL PERSONNEL	24
II.1. L'étape pré-analytique : élaboration d'une stratégie analytique	24
II.1.1. Les substances à rechercher dans un contexte de soumission chimique	24
II.1.2. Les différentes matrices disponibles et leurs intérêts	27
II.1.3. Les techniques analytiques	33
II.2. Nouvelles méthodes analytiques développées pour les cas de soumission chimique	37
II.2.1. Détection et quantification de 35 psychotropes dans les prélèvements capillaires	37
II.2.2. Transposition de la méthode « psychotropes » dans le sang et l'urine	57
II.3. Particularités de l'étape post-analytique dans le contexte de soumission chimique	67
II.3.1. Interprétation par le toxicologue	67
II.3.2. Interprétation par la justice pénale	69
II.3.3. Exemples de cas avérés de soumission chimique	72
CONCLUSION	76
BIBLIOGRAPHIE	78
INDEX DES FIGURES ET TABLEAUX	84
ANNEXES	86

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

---

ACN	acétonitrile
AFSSaPS	Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
ANSM	Agence Nationale de Sécurité du Médicament
C <sub>2</sub>	Concentration intermédiaire
CAP	Centre Anti-Poison
CE	Collision Energy
CEDIA	Cloned Enzyme Donor ImmunoAssay
CEIP	Centre d'Évaluation et d'Information sur la Pharmacodépendance
CEP	Cell Entrance Potential
CG-SM	Chromatographie en phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse
CHU	Centre Hospitalier Universitaire
CL-SM	Chromatographie en phase Liquide couplée à la Spectrométrie de Masse
CL-SM/SM	Chromatographie en phase Liquide couplée à la Spectrométrie de Masse en tandem
CL-UVBD	Chromatographie en Phase Liquide couplée à un détecteur UV à Barrette de Diodes
cm	centimètre
C <sub>max</sub>	Concentration maximale
COFRAC	COmité FRançais d'ACcréditation
CQI	Contrôle de Qualité Interne
CRPV	Centre Régional de PharmacoVigilance
CV%	Coefficient de Variation
CXP	Cell eXit Potential
DGS	Direction Générale de la Santé
DHOS	Direction de l'Hospitalisation et de l'Organisation des Soins
DP	Declustering Potential
ECBU	Examen CytoBactériologique des Urines
EDTA	Acide Éthylène Tétra-Acétique
EI	Étalon Interne
EP	Entrance Potential
ES	Electrospray
FIA	Flow Injection Analysis
FPIA	Fluorescence Polarization ImmunoAssay
GHB	Gamma-hydroxybutyrate
GS1	Débit du gaz de nébulisation
GS2	Débit du gaz auxiliaire chauffant
HCl	Acide chlorhydrique
HLB	Hydrophilic Lipophilic Balanced reversed phase sorbent
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	phosphate de potassium
LDD	Limite De Détection
LDQ	Limite De Quantification



LINAC	LINEarity ACceleration
LSD	Diéthylamide de l'acide lysergique
MCX	Mixed-mode Cation eXchange
µg/L	microgramme par litre
mg/L	milligramme par litre
mL	millilitre
mM	millimole par litre
mm	millimètre
NaOH	soude
OPJ	Officier de Police Judiciaire
pg/mg	picogramme par milligramme
psi	pound per square inch
r <sup>2</sup>	coefficient de détermination
SFTA	Société Française de Toxicologie Analytique
sMRM	scheduled Multiple Reaction Monitoring
SNC	Système Nerveux Central
SOFT	Society of Forensic Toxicologists
SPE	Solid Phase Extraction
TF	tampon formiate d'ammonium
Trr	Temps de rétention relatif
TSO	Traitement de Substitution aux Opiacés
UV	Ultra-Violet
v/v	volume par volume

## INTRODUCTION

---

**L**a soumission chimique se définit comme l'administration à des fins criminelles (viol, acte de pédophilie) ou délictuelles (violences volontaires, vol) d'un ou plusieurs produits psychoactifs, à l'insu de la victime ou sous la menace [1]. L'objectif principal de l'agresseur est de provoquer chez sa victime une altération notable de la vigilance, de ses capacités de jugement et de son libre arbitre [2]. Les substances utilisées sont le plus souvent incorporées dans des boissons, alcoolisées ou non, et plus rarement dans des aliments comme des pâtisseries ou des bonbons [3-4].

L'utilisation de drogues (médicaments ou toxiques) pour influencer sur le comportement ou la vigilance d'une personne n'est pas un phénomène récent. Par exemple, il est de notoriété publique qu'une faible dose d'éthanol était autrefois ajoutée dans les biberons pour calmer les enfants... Seules les substances ont changé au fil des temps [5]. La notion de « soumission chimique » est apparue pour la première fois en 1983, décrite par l'expression « soumission par médication » [6]. Entre 1993 et 2001, l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSaPS) aujourd'hui renommée Agence Nationale de Sécurité du Médicament (ANSM), a eu connaissance d'environ 200 cas avec identification de produits. Suite à ces nombreuses notifications, la Direction de l'Hospitalisation et de l'Organisation des Soins (DHOS) et la Direction Générale de la Santé (DGS) ont diffusé en 2002, une circulaire relative à la prise en charge des victimes de soumission chimique par les établissements hospitaliers. Cette circulaire visait à informer le personnel des urgences des établissements de santé sur la possibilité de survenue de ces cas de soumission chimique et à mettre en place des modalités d'accueil et de prise en charge des victimes. De plus, ce texte a instauré un réseau de recensement et d'analyse des cas afin de connaître l'ampleur de ce problème d'intérêt public et la nature des substances incriminées [7]. Ainsi, depuis 2003, l'AFSSaPS a mis en place un suivi national (« Enquête Nationale Soumission Chimique »), en collaboration avec les Centres d'Évaluation et d'Information sur la Pharmacodépendance (CEIP), les laboratoires de toxicologie analytique, les Centres Régionaux de Pharmacovigilance (CRPV) et les Centres Anti-Poison (CAP) [1,8-11].

Aujourd'hui, la soumission chimique est un phénomène mieux connu même, si pour la majorité de la population, cette notion se limite à l'utilisation de « drogues du viol ». Cependant, malgré l'information du public par des campagnes de prévention, le nombre de cas demeure toujours élevé.

Les cas de soumission chimique se caractérisent par la présence de trois critères :

- l'administration d'une substance psychoactive identifiée ou suspectée
- une agression ou une tentative d'agression signalée ou suspectée
- des données cliniques et chronologiques compatibles avec la pharmacologie de la substance administrée.

La soumission chimique doit être distinguée de la vulnérabilité chimique, qui se définit quant à elle par l'abus d'une personne en état de faiblesse, du à une consommation volontaire d'un ou plusieurs produits psychoactifs. La soumission chimique est également à différencier de l'empoisonnement dont l'objectif est de tuer la victime.

L'ensemble de la population peut être concerné par ce type d'agression. Cependant, trois catégories de personnes sont plus vulnérables :

- les femmes, souvent jeunes, lors de viols prémédités,
- les enfants, généralement « sédatés » par le pédophile, ou pour « avoir la paix » lorsque l'agresseur est une nourrice ou un parent,
- et les personnes âgées, davantage concernées par des vols, des extorsions de chèques ou de codes de cartes de crédit.

Le service de pharmacologie, toxicologie et pharmacovigilance du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Limoges étant souvent sollicité pour réaliser des investigations toxicologiques dans des cas de soumission chimique, les objectifs de ma thèse visaient à faciliter la prise en charge toxicologique des cas de soumission chimique.

Tout d'abord, mon travail consistait à créer un document aidant à l'élaboration de la stratégie analytique en fonction des signes cliniques de la victime et du délai de prise en charge médicale.

Le second objectif était le développement d'une méthode de recherche des principales substances psychotropes pouvant être utilisées dans ce contexte, dans les cheveux dans un premier temps, puis dans le sang et l'urine dans un second temps. L'intérêt de ce travail était de réunir dans une même méthode d'analyse une trentaine de molécules-mères (ainsi que leurs métabolites) de nature et de propriétés pharmacologiques variées, compliquant la mise au point d'une extraction et d'une technique d'analyse unique.

Enfin, le dernier but était de développer une méthode par chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (CL-SM/SM) permettant d'obtenir des limites de détection faibles, de l'ordre du pg/mg de cheveux ou de l'ordre du µg/L dans le sang et l'urine.

Après l'énoncé de généralités concernant la soumission chimique, telles que les effets recherchés et les substances utilisées, nous nous intéresserons davantage au travail personnel réalisé dans le cadre de cette thèse à travers les 3 étapes d'une analyse toxicologique. Tout d'abord, nous aborderons la façon d'élaborer une stratégie analytique, puis nous développerons les protocoles spécifiquement mis au point dans les cheveux, le sang et l'urine pour la recherche de psychotropes utilisés en soumission chimique. Enfin, nous discuterons des difficultés d'interprétation de résultats analytiques dans un tel contexte.

# I. GÉNÉRALITÉS SUR LA SOUMISSION CHIMIQUE

---

## I.1. PROFIL TYPE D'UNE SUBSTANCE DE SOUMISSION CHIMIQUE

**D**u point de vue des agresseurs, l'objectif de soumettre chimiquement une victime est de faciliter son agression en la rendant davantage vulnérable et moins capable de se rappeler des faits. Deux types de situation doivent être distingués [12] :

- les victimes « endormies » ou présentant une sédation ou des troubles de conscience (vertiges, confusion, ralentissement psychomoteur) suffisants pour que soit compromise toute résistance, autorisant des vols ou abus sexuels. La sédation peut également être le but final, notamment chez les enfants pour « avoir la paix »,
- les victimes « actives » conscientes mais soumises ou désinhibées, commettant des actes contre leur volonté propre, conduisant notamment à des spoliations de biens, à des abus sexuels ou à des actes de pédophilie [4,7].

L'agresseur choisit donc la drogue à utiliser selon les effets qu'elle entraîne (ses propriétés pharmacologiques), mais également selon des critères visant à faciliter la réalisation pratique du crime ou délit et à favoriser son impunité.

### I.1.1. LES EFFETS RECHERCHÉS [2–4,12,13]

#### I.1.1.1. EFFET AMNÉSIANT

Cette propriété n'est pas recherchée par l'agresseur pour faciliter l'agression mais ses suites. Elle favorise effectivement l'impunité de l'agresseur puisqu'elle entraîne un retard de témoignage et des explications confuses ; elle entrave fortement le témoignage de la victime concernant la description des faits et de leur auteur [14]. Très perturbante et angoissante pour la victime, cette amnésie peut provoquer un sentiment de culpabilité, surtout lorsqu'il y a eu consommation concomitante et volontaire d'éthanol. Ces troubles peuvent même dissuader la victime de porter plainte, et entraînent systématiquement un retard dans la prise en charge et la réalisation des prélèvements. Cette amnésie est antérograde (incapacité de mémoriser les faits les plus récents) et commence rapidement après la consommation de la substance psychoactive. Cependant, elle n'est pas toujours

complète. Certaines victimes présentent parfois des « flashes », c'est-à-dire quelques souvenirs partiels.

Certains médicaments exercent directement une action négative sur les capacités de mémorisation à long terme, comme la kétamine, le gamma-hydroxybutyrate (GHB),... Les benzodiazépines ont la particularité d'induire un syndrome d'amnésie-automatisme. Dans ce syndrome, au cours d'un épisode d'amnésie, le sujet continue à avoir un comportement qu'il perçoit ordonné et adapté, alors que, dans les faits, ce comportement se traduit par des troubles de la vigilance. Cet effet indésirable s'explique par le fait que ces substances laissent fonctionner la mémoire à court terme mais empêchent la mémorisation à long terme. Comme la mémorisation à court terme est toujours effective, le sujet s'adapte à la situation, répond, agit etc..., mais il ne garde aucun souvenir de cette activité automatique. L'effet amnésiant peut être complété par une désinhibition, c'est-à-dire une perte de son propre contrôle aboutissant parfois à des actes délictueux commis ou subis, induits par des pulsions [15–17]. À l'issue de cette période, l'individu n'a donc pas la mémoire des événements vécus. En général, ce processus d'amnésie-automatisme se produit plutôt chez un sujet naïf de toute prise antérieure de benzodiazépines et très souvent en début de nuit [18].

#### I.1.1.2. EFFET SÉDATIF OU HYPNOTIQUE

Les substances sédatives et hypnotiques exercent une action dépressive sur le système nerveux central (SNC). Les sédatifs provoquent une sensation de calme, de bien-être et une somnolence. Les hypnotiques induisent endormissement, sommeil, ou perte de conscience.

Les molécules ayant de telles propriétés sont utilisées en soumission chimique afin de faciliter une agression car elles perturbent les capacités d'éveil, d'attention et de réponse à cette attaque.

Généralement, les agresseurs adaptent l'intensité de l'effet selon le contexte de l'agression :

- Une sédation légère afin d'empêcher toute résistance tout en maintenant les victimes conscientes, notamment dans les cas d'abus sexuels et d'extorsions de codes de cartes de crédits ou de signatures de documents comme des chèques. L'objectif est de permettre le contrôle d'une victime.
- Pour les cas impliquant des enfants ou pour les vols, un effet hypnotique avec obtention d'un état proche du sommeil ou un sommeil complet est généralement recherché. Cet effet permet à l'agresseur de mener ses activités en toute tranquillité, sans être dérangé.

#### I.1.1.3. EFFET DÉSINHIBITEUR

La désinhibition est un effet indésirable de certains psychotropes, mais qui est recherché par l'agresseur lors d'abus sexuel. En effet, l'action désinhibitrice conduit à une perte de jugement de la part de la victime qui admet des situations qu'elle aurait jugées inacceptables dans un état de conscience normal. Ainsi, la victime peut devenir active et des témoins pourraient la croire consentante.

#### I.1.1.4. EFFET HALLUCINOGENÈNE

Une hallucination est définie comme une perception sans objet, provenant d'une désorganisation psychique. Elle peut toucher un ou tous les sens ou créer une modification de la notion du temps et de l'espace.

La confusion, conséquence des hallucinations, rend la victime plus propice à une agression. De plus, elles sont souvent accompagnées de modifications affectives de type délire mystique ou érotique, favorisant une désinhibition et un abus sexuel.

Enfin, la désorientation spatio-temporelle perturbe le témoignage de la victime (estimation de l'heure, le lieu, la description de l'agresseur,...), garantissant l'impunité de l'auteur des faits.

#### I.1.1.5. SYMPTOMATOLOGIE PEU ÉVOCATRICE

Il est évident qu'une substance donnée à l'insu de la victime ne doit pas provoquer chez cette personne de signes cliniques spécifiques permettant d'identifier son administration par le corps médical. Au contraire, la symptomatologie doit correspondre à de multiples étiologies afin de compliquer et retarder le diagnostic de soumission chimique. Par exemple, lorsqu'une substance est administrée par l'intermédiaire d'une boisson alcoolisée, il est facile pour l'entourage et le personnel soignant de croire à une ivresse alcoolique simple... provoquant à nouveau un retard dans l'évocation d'une possible soumission chimique, et diminuant les capacités de détection de la substance en cause, donc des preuves biologiques du diagnostic.

## I.1.2. LES CARACTÉRISTIQUES D'UNE SUBSTANCE « IDÉALE »

### 1.1.2.1. FACILITÉ D'OBTENTION

Selon cet important critère du point de vue de l'agresseur, les substances rencontrées en soumission chimique peuvent être classées en trois catégories :

- Les substances non réglementées, c'est-à-dire des produits en vente libre dans les commerces, ou même disponibles dans la nature. Il s'agit par exemple de l'éthanol et des champignons hallucinogènes.
- Les médicaments obtenus avec ou sans prescription, détournés de leur Autorisation de Mise sur le Marché (AMM). En effet, en France, premier pays consommateur d'anxiolytiques, il est très facile d'obtenir de la part de son médecin traitant une prescription d'une benzodiazépine pour troubles mineurs du sommeil. Mais afin d'éviter de laisser des traces, les prescriptions sont également falsifiées. D'autres médicaments sédatifs légers, comme la diphenhydramine, sont accessibles sans ordonnance, donc sans aucun contrôle. En revanche, l'obtention des médicaments classés comme stupéfiants (GHB, kétamine) est plus délicate. Ils sont régulièrement volés dans des pharmacies, ou des cliniques vétérinaires.
- Les drogues illicites. Elles sont généralement plus onéreuses et il est plus risqué de s'en procurer. Cependant, internet facilite grandement leur approvisionnement car le réseau permet de commander à l'étranger et propose de multiples « recettes » et techniques de préparation. Elles sont donc généralement moins employées en soumission chimique que les médicaments.

### I.1.2.2. ACTION RAPIDE, DE COURTE DURÉE

L'agresseur ne veut et ne peut généralement pas attendre plusieurs heures que la drogue fasse effet. Il prévoit d'agir peu de temps après l'administration, tant que la victime est sous son emprise. Si le délai d'action est long, le contexte entourant l'agression peut changer et la victime s'échapper ou être moins accessible. La rapidité d'action est donc un critère primordial pour un agresseur.

L'action doit également être de courte durée afin de ne pas éveiller les soupçons. Une somnolence importante ou un sommeil de 24 heures est plus susceptible de créer des doutes chez la victime qu'une « absence » de quelques heures, surtout si elle a consommé des boissons alcoolisées dans un lieu festif.



### I.1.2.3. ADMINISTRATION DISCRÈTE À LA VICTIME

- **Administration par voie orale**

Dans un but de soumission chimique, la voie d'administration privilégiée est la voie orale en raison de son accessibilité. Les substances sont donc généralement administrées par l'intermédiaire de boissons alcoolisées ou non (café, thé, jus de fruit,...) ou plus rarement, d'aliments. Par conséquent, elles doivent être facilement et rapidement solubles dans ces boissons, sans laisser de résidus. Les molécules disponibles sous forme de sirop (alimémazine, niaprazine,...) ou de gouttes (clonazépam, halopéridol,...) sont donc très utilisées en soumission chimique.

L'utilisation de la voie injectable ne peut être envisagée que dans un contexte de soins infirmiers.

- **Sans goût, ni odeur, ni couleur**

Pour ne pas éveiller les soupçons de la victime, les molécules administrées ne doivent pas modifier le goût, l'odeur ou la couleur de la boisson véhicule. Les boissons alcoolisées sont très utilisées car elles masquent généralement le goût éventuel des substances, tout en potentialisant les effets. Le café est également un véhicule intéressant en soumission chimique à cause de sa couleur sombre et de son amertume.

Afin d'alerter des victimes potentielles, la galénique du Rohypnol<sup>®</sup> (flunitrazépam) a été modifiée en 2005, suite à son implication dans de nombreux cas de soumission chimique. Désormais, les comprimés de flunitrazépam se dissolvent plus lentement, laissent des résidus et colorent la boisson en bleu. Le Rivotril<sup>®</sup> en solution (clonazépam) est en train, également d'être modifié d'une façon similaire (ajout d'un colorant) pour les mêmes raisons.

- **Action à faible dose**

Plus la substance agit à faible dose, moins l'agresseur a besoin d'en administrer. L'ajout dans une boisson passera d'autant plus inaperçu pour la victime.

#### I.1.2.4. DIFFICULTÉS DE MISE EN ÉVIDENCE

L'établissement de la preuve de soumission chimique peut être rendu particulièrement difficile en raison des critères évoqués ci-après, qui sont devenus des qualités appréciées par l'agresseur, favorisant une fois de plus son impunité.

- **Action à faible dose**

Après une administration unique, les substances de soumission chimique sont présentes à de très faibles concentrations dans l'organisme et sont donc difficilement détectables par des techniques analytiques classiques, comme l'immunochimie.

- **Demi-vie courte**

La demi-vie d'élimination plasmatique d'un xénobiotique est le temps nécessaire pour que sa concentration plasmatique diminue de moitié. Par conséquent, plus elle est faible, plus une substance est éliminée rapidement de l'organisme. Le composé possède alors une fenêtre de détection courte et aura moins de chance d'être détecté dans les prélèvements biologiques, *a fortiori* s'ils ont été réalisés tardivement, empêchant l'affirmation qu'il s'agit d'un cas de soumission chimique. La mise en évidence d'une substance dans ce contexte nécessite donc la mise en œuvre de techniques analytiques très sensibles, la recherche de métabolites, ou l'analyse à partir de matrices ayant une fenêtre de détection plus importante, comme les prélèvements capillaires.

- **Instabilité *in vitro***

L'instabilité *in vitro* englobe à la fois la dégradation et la production de certaines molécules pendant le délai entre la réalisation des prélèvements et leur analyse. Ces deux phénomènes compliquent l'interprétation des résultats analytiques puisqu'ils sont à l'origine respectivement de faux-négatifs ou de faux-positifs. Ils dépendent des conditions de conservation des échantillons (température de stockage, absence de conservateur) et du temps écoulé entre les prélèvements et les analyses.

- **Substance endogène**

C'est le cas du GHB qui est un composé naturellement présent dans l'organisme. Cette molécule est donc systématiquement détectée dans les prélèvements biologiques, compliquant l'interprétation dans les cas de soumission chimique.

## **I.2. SUBSTANCES UTILISÉES [1,8–11,13,14]**

**M**algré les nombreux critères à réunir, les molécules utilisées dans un contexte de soumission chimique sont nombreuses et diversifiées.

L'éthanol est la substance la plus souvent retrouvée dans de tels cas, que ce soit seule ou associée avec un autre xénobiotique.

Les composés de la famille des benzodiazépines sont les médicaments les plus souvent mis en cause, que leur demi-vie soit courte ou longue et notamment le flunitrazépam, le clonazépam et le bromazépam.

Les autres médicaments régulièrement impliqués dans de tels cas sont les hypnotiques (zolpidem et zopiclone), certains neuroleptiques et antihistaminiques H1 à visée sédatrice et les anesthésiques comme la kétamine et le GHB. Cette dernière molécule constitue un cas particulier puisqu'il s'agit donc d'un médicament anesthésique réservé à l'usage hospitalier, mais également d'une substance endogène et d'une drogue. Elle est souvent appelée « la » drogue du viol et est la plus connue de grand public bien qu'elle soit très rarement retrouvée dans les cas de soumission chimique. Le GHB utilisé dans ce contexte provient généralement de productions artisanales clandestines. Sa demi-vie est particulièrement courte puisqu'elle varie de 30 à 60 minutes seulement. Sa mise en évidence est donc très difficile et nécessite des prélèvements biologiques réalisés très précocement [4]. Pour cette molécule, il peut être très intéressant d'analyser le contenant de la boisson véhiculée pour soumettre chimiquement.

Enfin, l'administration de drogues illicites est également mise en évidence dans de nombreux cas, qu'il s'agisse d'ecstasy, d'hallucinogènes comme le LSD et la scopolamine, ou le plus fréquemment, de cannabis.

Ces substances et leur profil sont présentés dans le **tableau 1**.

**Tableau 1** : Liste non exhaustive des principales substances ou classes médicamenteuses susceptibles d'être utilisées à des fins de soumission chimique [1,3,8–11,13,19]

	Effets recherchés				Aspects pratiques				
	Sédation	Hallucinations	Amnésie	Désinhibition	Action rapide	Action brève	Symptomatologie peu caractéristique	Obtention facile	Possibilité d'administration discrète
Anticholinergiques	+	+++	++	-	+	+	-	+++	++
Benzodiazépines	++	+	+++	+++	++	(1)	+++	++	++
Cannabinoïdes	++	++	+	++	++	+	+	++	+
Ecstasy et apparentés	-	+	-	+++	++	++	-	+	+
Ethanol	+	+	++	++	(2)	(2)	++	+++	+
GHB	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Hypnotiques antihistaminiques	++	+	+	-	+	-	++	++	++
Kétamine	++	+++	++	+	+++	+++	++	+	+++
LSD	+	+++	+	++	++	-	++	+	+++
Méprobamate	+++	-	-	-	++	+	+++	++	++
Neuroleptiques	++(3)	+	-	++(3)	-	-	+	++	++
Opiacés	++	+	-	-	+++ (4)	++(4)	-	+	++

(1) la durée d'action est variable selon les benzodiazépines et leur demi-vie.

(2) il existe une forte variation inter-individuelle pour ces deux paramètres.

(3) l'effet sédatif ou désinhibiteur varie selon le type de neuroleptique.

(4) valable pour les morphiniques utilisables par voie orale d'action brève tels que l'Actiskéan®.

## **I.3. LA PRISE EN CHARGE MÉDICALE DES VICTIMES SUPPOSÉES DE SOUMISSION CHIMIQUE**

### **I.3.1. POUR UNE PRISE EN CHARGE OPTIMALE**

La prise en charge médicale d'une victime supposée de soumission chimique doit avoir lieu le plus rapidement possible après les faits allégués. Cela nécessite une information de toutes les personnes pouvant être impliquées comme les médecins généralistes, les officiers de police judiciaire (OPJ), les médecins urgentistes, ... afin que le diagnostic éventuel de soumission chimique soit établi au plus tôt [7,14,20].

Elle doit comporter :

- un recueil du témoignage, même s'il est rendu difficile du fait de l'amnésie provoquée par le produit administré. Il doit s'étendre à l'entourage et aux témoins pour obtenir la meilleure reconstitution possible des faits. Il précisera dans la mesure du possible les circonstances et les horaires des faits, les symptômes et leur évolution, les traitements médicamenteux habituels et occasionnels de la victime, et les traitements médicamenteux éventuellement pris au décours des faits,
- un examen physique pour déceler des signes de l'agression,
- une évaluation de l'état psychologique,
- la réalisation de prélèvements biologiques (ADN, sérologie), incluant certains spécifiquement destinés à la mise en évidence éventuelle d'une substance psychoactive.

Toutes les mesures nécessaires doivent être prises afin que cette prise en charge médicale ne devienne un traumatisme supplémentaire pour la victime. Cependant, cette dernière doit être encouragée à porter plainte rapidement. Avec son accord, le clinicien peut aviser directement les services de police ou de gendarmerie afin qu'ils procèdent à l'audition de la victime. Ce point est important car seuls les rapports médicaux et les résultats d'analyses toxicologiques réalisés sur la base d'une réquisition judiciaire constituent des éléments de preuves opposables dans le cadre d'une enquête judiciaire. Si la victime est âgée de moins de 15 ans, l'article 226-14 du Code Pénal autorise la levée du secret professionnel (c'est-à-dire du secret médical) et permet ainsi la saisine des autorités judiciaires par le clinicien. Par conséquent, tous les cas de soumission chimique sur mineur de moins de 15 ans sont obligatoirement signalés à l'autorité judiciaire [7].

Une fiche de liaison entre le clinicien réalisant la prise en charge médicale et le toxicologue est essentielle car elle permet d'optimiser la stratégie analytique grâce à des précisions : date et heure des faits supposés, présence ou non d'une amnésie, les signes cliniques, le traitement habituel de la victime (avant et après les faits) [3,21]. La fiche de liaison existante au sein du CHU de Limoges est présentée en **annexe 1**. Le clinicien et le toxicologue peuvent même se concerter avant la réalisation des prélèvements et la prescription des analyses afin de les adapter à chaque cas.

### I.3.2. LES PRÉLÈVEMENTS BIOLOGIQUES NÉCESSAIRES À LA MISE EN ÉVIDENCE DE L'AGENT DE SOUMISSION CHIMIQUE

Les prélèvements à visée toxicologique ont fait l'objet d'un consensus de la Société Française de Toxicologie Analytique (SFTA) en 2003 [3]. Trois prélèvements doivent être réalisés systématiquement :

- du sang, prélevé exclusivement sur EDTA afin d'éviter la formation *in vitro* de GHB, en double soit 2 fois 10 mL (**Figure 1**),
- de l'urine, sur flacon de type Examen CytoBactériologique des Urines (ECBU) en double, soit 2 fois 30 mL (**Figure 1**),
- 4 mèches de cheveux orientées et coupées au ras du cuir chevelu en vertex postérieur, prélevées immédiatement, et, éventuellement, 3 à 5 semaines après les faits (**Figure 2**).



**Figure 1** : Prélèvements sanguins et urinaires réalisés en double dans un contexte de soumission chimique.



**Figure 2** : Mèche de cheveux isolée et orientée à l'aide d'une cordelette, indiquant l'extrémité correspondante au cuir chevelu.

Le sang et l'urine doivent être conservés à basses températures, de préférence congelés (- 20 °C). Les cheveux sont à conserver dans un endroit sec, à l'abri de la lumière et à température ambiante pour éviter toute dégradation d'éventuels xénobiotiques [21].

Ces prélèvements doivent idéalement être réalisés avant toute administration de médicaments anxiolytiques au cours de la prise en charge médicale [4]. En cas de démarche purement médicale, la moitié des prélèvements est conservée en vue d'une éventuelle procédure judiciaire ultérieure [21].

## II. TRAVAIL PERSONNEL

---

### II.1. L'ÉTAPE PRÉ-ANALYTIQUE : ÉLABORATION D'UNE STRATÉGIE ANALYTIQUE

#### II.1.1. LES SUBSTANCES À RECHERCHER DANS UN CONTEXTE DE SOUMISSION CHIMIQUE

Dans les cas de soumission chimique, la première difficulté rencontrée par le toxicologue est la multiplicité et la diversité des molécules devant être recherchées dans une quantité limitée d'échantillons.

La première étape de la prise en charge analytique doit être une recherche large et efficace de médicaments et/ou toxiques ; recherche également appelée screening. Cette analyse qualitative permet d'identifier les composés présents dans l'échantillon afin de cibler les dosages spécifiques à réaliser par la suite. Cependant, même en l'absence de mise en évidence de composés lors du screening, il convient de réaliser des recherches spécifiques d'une substance ou d'une famille de composés.

En effet, ces dernières méthodes ont généralement une meilleure sensibilité (permettent d'obtenir des limites de détection plus faibles) que le screening. De plus, toutes les molécules ne sont pas détectables lors d'un screening.

En 2005, l'AFSSaPS a proposé une liste de molécules à rechercher en priorité dans les cas supposés de soumission chimique. Cette liste reprend le consensus de la SFTA établi en 2003 [3].



Il s'agit de :

- l'alcool éthylique,
- des benzodiazépines et molécules apparentées (zolpidem et zopiclone),
- des antihistaminiques H1 et sédatifs,
- des anticholinergiques (butyrophénones, phénothiazines, benzamides...),
- du méprobamate,
- du GHB,
- de la kétamine,
- des cannabinoïdes,
- des opioïdes,
- de la cocaïne,
- du LSD et des amphétamines [21].

Presque 10 ans après, cette liste n'a pas changé et a été reprise dans le traité de toxicologie médico-judiciaire [2].

Par ailleurs, la Society of Forensic Toxicologists (SOFT) a également établi une longue liste de molécules à rechercher en soumission chimique. Mais certaines de ces molécules ne sont disponibles qu'aux États-Unis, et les recherches proposées sont uniquement urinaires (**Annexe 2**) [22].

Plus récemment, la SFTA a publié des instructions pour des contrôles externes de qualité relatifs à la soumission chimique [23]. Parmi ces consignes, figure la liste des xénobiotiques pouvant être contenus dans ces contrôles (**Annexe 3**). Cette liste constitue le « minimum requis » dans le cadre de la participation à ce contrôle.

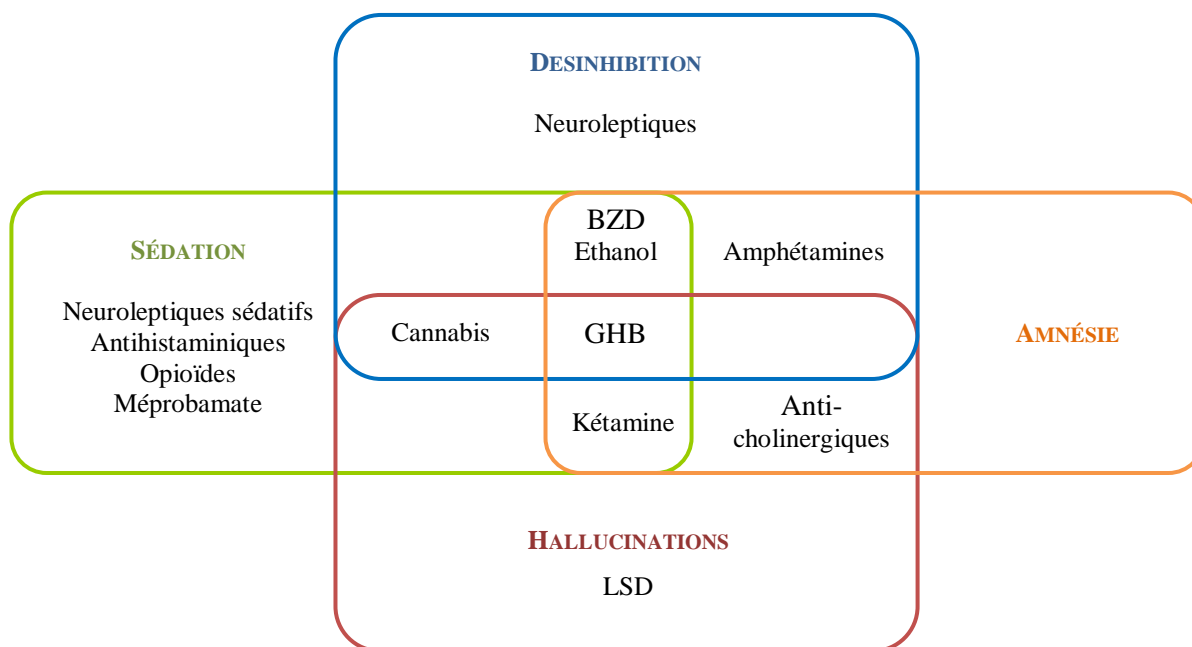
Il est bien entendu que, bien que très fournies, ces listes ne sont pas exhaustives.

De plus, la recherche de telle substance, ou de telle famille de substances, nécessite la mise en œuvre de multiples méthodes analytiques spécifiques. Malheureusement, il est rare que les prélèvements parviennent au laboratoire en quantité suffisante pour réaliser la totalité des investigations. Par conséquent, il est absolument nécessaire d'orienter les analyses à l'aide des circonstances et des signes cliniques relevés par le médecin effectuant la prise en charge, d'où l'importance d'une collaboration et d'un dialogue entre le clinicien et le toxicologue, ou de la rédaction d'une fiche de liaison.

Comme nous l'avons vu précédemment, les substances utilisées dans un contexte de soumission chimique sont souvent à l'origine d'une symptomatologie peu évocatrice. Cependant, deux profils principaux de signes cliniques se distinguent : les victimes plutôt « endormies » d'une part, et les victimes plutôt actives et désinhibées d'autre part.

- Lorsqu'une notion de sédation prédomine, il est donc logique d'exclure en premier lieu la recherche d'amphétamines pour favoriser la mise en évidence d'hypnotiques et de sédatifs. Les molécules à rechercher en priorité sont les benzodiazépines et les molécules apparentées, les neuroleptiques sédatifs et les antihistaminiques H1, ... puis l'éthanol, le GHB, le cannabis et les opioïdes dans un second temps.
- Au contraire, lorsque la victime ou son entourage rapporte une désinhibition anormale, les amphétamines, les ecstasys et le GHB doivent constituer les analyses de première intention, mais également les benzodiazépines, qui peuvent être à l'origine de réactions paradoxales. Les autres substances qui sont probablement à rechercher sont l'éthanol, le cannabis, le LSD et les neuroleptiques.
- Si la victime rapporte des hallucinations, la prise en charge analytique doit s'orienter vers le LSD, la scopolamine et la kétamine. Ensuite, si les quantités de prélèvements le permettent, les méthodes de recherche du cannabis et du GHB doivent également être mises en œuvre.
- En cas d'amnésie, les molécules à rechercher en priorité sont les benzodiazépines et le GHB, puis, secondairement, les molécules anticholinergiques et la kétamine. L'éthanol, en quantité importante, peut également être à l'origine d'une amnésie.

La **figure 3** montre les analyses à réaliser en priorité selon les signes cliniques et leur combinaison. Cependant, ce schéma n'est pas exhaustif et ne constitue qu'une indication. Par ailleurs, il montre que le GHB se situe au carrefour des effets recherchés par un agresseur. La recherche de cette molécule ne doit donc pas être négligée, même si elle n'est envisageable que si les prélèvements ont été réalisés dans les 12 à 24 heures après les faits tant sa demi-vie est courte.



**Figure 3 :** Substances ou familles de substances à rechercher en priorité dans les cas de soumission chimique en fonction de la symptomatologie.

Les symptômes précités sont peu spécifiques d'une substance ou d'une autre. Toutefois, ils sont les plus faciles à observer et à rapporter par la victime ou son entourage. D'autres signes cliniques peuvent contribuer à orienter la prise en charge analytique.

Par exemple, la présence d'un myosis est retrouvée lors de l'administration d'opioïdes, tandis qu'il s'agit plutôt d'une mydriase avec le cannabis, les anti-cholinergiques, le LSD ou les amphétamines. Cependant, de tels signes sont rarement relevés par des témoins éventuels, et ne sont généralement plus présents, plus tard, lors de l'examen médical.

Enfin, si aucune substance n'est révélée lors de ces analyses et si la quantité de prélèvements le permet, des composés rencontrés plus rarement dans les cas de soumission chimique sont à rechercher. C'est le cas notamment du tramadol, du propoxyphène, ou encore des traitements de substitution aux opiacés (TSO) : la buprénorphine et la méthadone.

## II.1.2. LES DIFFÉRENTES MATRICES DISPONIBLES ET LEURS INTÉRÊTS

La grande majorité des analyses toxicologiques est réalisée dans les matrices dites conventionnelles, c'est-à-dire les liquides biologiques que sont le sang et l'urine. Depuis plusieurs années, les analyses capillaires connaissent un essor et sont aujourd'hui effectuées en routine dans certains laboratoires. Plus rarement, la recherche de molécule de soumission chimique peut être effectuée

dans des produits non biologiques, comme des échantillons de boissons ou d'aliments susceptibles d'avoir été le véhicule de la substance, ou encore à partir de résidus présents sur des récipients, notamment des verres [7]. Cependant, dans le travail présent, nous nous intéresserons uniquement aux échantillons d'origine biologique.

#### II.1.2.1. LES LIQUIDES BIOLOGIQUES : SANG ET URINE

Ces deux matrices possèdent chacune leurs avantages et sont complémentaires, d'où l'importance de prélever dans un même temps des échantillons sanguins et urinaires.

L'urine est une matrice simple sur un plan analytique (par rapport au sang), et généralement prélevée en quantité plus importante que le sang. Par conséquent, les recherches larges de xénobiotiques sont réalisées en première intention dans cette matrice, afin d'identifier la substance en cause. De plus, sa fenêtre de détection est plus large que celle du sang, car les médicaments et toxiques (et leurs métabolites) sont davantage concentrés dans l'urine. Ainsi, après la prise d'une seule unité galénique, les psychotropes sont détectables, en moyenne, jusqu'à 3 à 5 jours dans le sang, et, le pic de concentration plasmatique précédant le pic de concentration urinaire, 10 à 15 jours dans l'urine, selon la molécule et à condition de disposer de techniques très performantes [24]. Le délai de détection est prolongé par la présence de métabolites en concentrations généralement plus élevées que la substance-mère.

Le sang, quant à lui, constitue la matrice indispensable pour quantifier les molécules qui auront été préalablement mises en évidence dans l'urine, et par conséquent, évaluer la dose (dans la mesure où le moment de l'administration est connu). Les concentrations sanguines permettent d'apprécier la dose et/ou le moment de l'administration. Le sang est donc la matrice essentielle pour caractériser un cas de soumission chimique.

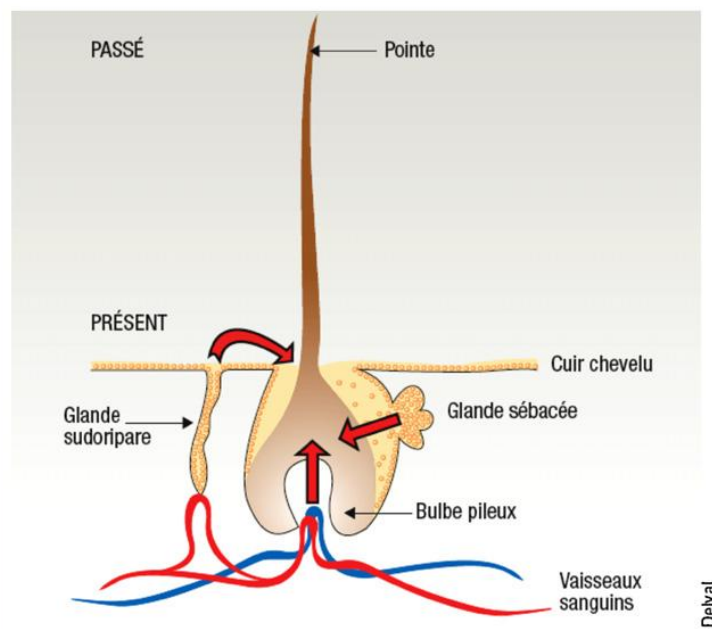
#### II.1.2.2. INTÉRÊT TOXICOLOGIQUE DES ANALYSES CAPILLAIRES [13,25,26]

Tout d'abord, les mécanismes d'incorporation des drogues dans les cheveux sont encore mal connus, mais il semblerait qu'ils soient principalement de deux types (**Figure 4**) :

- un mécanisme d'incorporation « actif » chez la personne qui a consommé la substance. Cette dernière, à partir du sang, va diffuser vers les cellules du bulbe pileux. La sueur et le sébum véhiculent également les xénobiotiques jusqu'à la tige pileuse.

- un mécanisme passif, c'est-à-dire une incorporation par la sueur ou par contamination externe, par la fumée ou les mains souillées, par exemple.

Les propriétés physico-chimiques des molécules influencent cette incorporation. Ainsi, des substances lipophiles, tels les psychotropes, s'incorporent mieux que des substances hydrophiles, ce qui explique que les molécules mères soient retrouvées en quantité supérieure à leurs métabolites lors des analyses toxicologiques dans les cheveux.



**Figure 4** : Différents modes d'incorporation des xénobiotiques dans un cheveu [24]

Les cheveux poussent d'environ 1 cm par mois (0,8 à 1,3 cm) [19]. Cette vitesse de pousse est plus régulière dans la région du vertex postérieur, expliquant la réalisation d'un prélèvement préférentiellement dans cette zone. Les xénobiotiques incorporés par mécanisme actif se fixent dans le cheveu au niveau du bulbe puis, avec la croissance du cheveu, migrent le long de la tige pileuse. Il faut compter environ 5 jours pour qu'une molécule atteigne la partie aérienne du cheveu [27]. La fixation des psychotropes dans les cheveux étant relativement stable, il est donc possible de mettre en évidence les psychotropes dans cette matrice plusieurs mois après leur administration ; ce délai n'est, en théorie, limité que par la longueur des cheveux. Les prélèvements capillaires constituent donc une matrice d'investigation rétrospective, ainsi que de documentation de l'évolution d'une consommation.

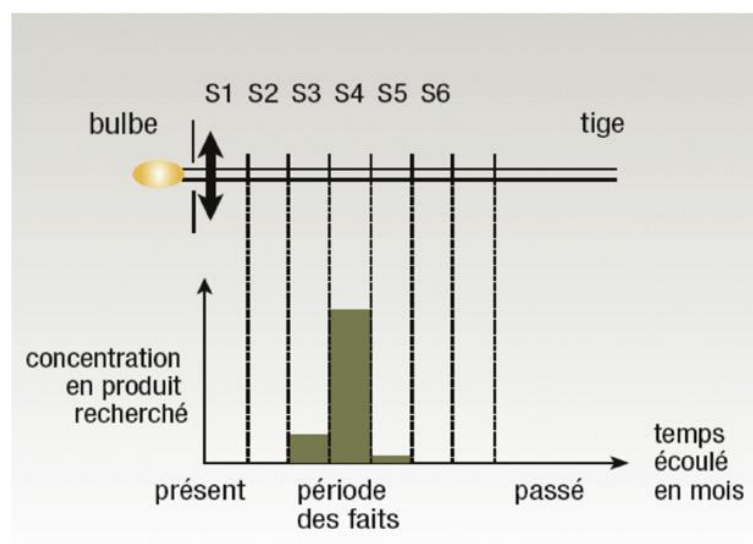
L'analyse des xénobiotiques dans les cheveux est très utile dans de multiples contextes :

- mise en évidence et évolution d'une toxicomanie
- compliance thérapeutique
- investigations toxicologiques *post-mortem* (putréfaction)
- exposition *in utero*
- dopage
- mise en évidence d'une consommation à distance (semaines)

Le délai écoulé entre les faits et les prélèvements biologiques est régulièrement trop important pour permettre la détection des psychotropes (ou de leurs métabolites) dans les liquides biologiques usuels (sang et/ou urine). Les cheveux présentent l'avantage d'élargir considérablement la fenêtre de détection. C'est pourquoi ils sont devenus un outil indispensable à l'investigation dans le contexte de soumission chimique.

Effectivement :

1°) Les cheveux poussent d'environ 1 cm par mois. Par conséquent, en segmentant les cheveux, on peut dater de manière approximative une exposition à un xénobiotique, ou confirmer un usage chronique si la substance est retrouvée tout au long de la mèche de cheveux (**Figure 5**).



**Figure 5** : Analyse segmentaire d'un échantillon capillaire (S = semaine) [24]

2°) Les prélèvements capillaires sont généralement réalisés un mois après les faits, le temps que les substances éventuellement administrées au moment des faits avérés ou supposés soient parvenues dans la tige pileaire aérienne (autour du premier cm à partir du cuir chevelu).

Si un prélèvement capillaire n'est pas réalisable (calvitie, personne rasée,...), il est possible d'analyser différents types de poils : pubiens, axillaires, de mollet ... mais uniquement en seconde intention. En effet :

- leur vitesse de croissance n'a pas été étudiée. Le délai d'apparition d'un composé dans la partie aérienne du poil et la fenêtre de détection ne sont donc pas connus.
- l'incorporation des xénobiotiques semble se faire principalement à partir de la sueur dans de tels prélèvements, puisqu'ils sont davantage en contact avec la peau que les cheveux. L'incorporation aurait donc lieu indifféremment le long du poil. La réalisation d'une analyse segmentaire est par conséquent inenvisageable.

Ces prélèvements sont peu informatifs et ne sont analysés qu'en dernier recours.

### II.1.2.3. L'APPORT DES DIFFÉRENTES MATRICES SELON LE DÉLAI ÉCOULÉ ENTRE LES FAITS ET LA RÉALISATION DES PRÉLÈVEMENTS

Dans la situation idéale, les prélèvements sanguins doivent être réalisés dans les 24 heures suivant les faits supposés, notamment pour le dosage du GHB, tandis que les urines peuvent être recueillies jusqu'à plusieurs jours après l'agression. Au-delà de quelques jours, les prélèvements sanguins et urinaires deviennent peu informatifs. Leur analyse n'est plus pertinente, excepté pour quelques molécules comme le cannabis. Mais l'interprétation est alors très délicate [20]. La combinaison de ces prélèvements permet d'obtenir une meilleure estimation de la période d'exposition au xénobiotique incriminé [28].

Lorsque la victime est examinée dans la semaine suivant l'agression, le sang, l'urine mais également les cheveux doivent être prélevés. Les différentes recherches de psychotropes sont généralement menées dans les échantillons urinaires plutôt que sanguins car leur volume est souvent plus important. Le sang n'est utilisé que dans un second temps pour une quantification des substances identifiées dans l'urine. Lorsque l'interprétation des résultats sanguins et urinaires est difficile, la recherche des xénobiotiques dans les prélèvements capillaires permet d'apporter un complément d'informations :

- L'analyse d'un prélèvement capillaire réalisé immédiatement après les faits permet, en cas de découverte d'un xénobiotique dans le sang ou l'urine, de différencier une exposition unique d'un usage chronique ; autrement dit de vérifier s'il y a prises répétées susceptibles de correspondre, par exemple, à un traitement médicamenteux

régulièrement prescrit à la personne concernée, plutôt qu'une administration unique à son insu au moment des faits avérés ou supposés.

- L'analyse d'un second prélèvement capillaire réalisé un mois plus tard (si les résultats des premières analyses toxicologiques s'avèrent négatifs) permet de mettre en évidence un xénobiotique lorsque les prélèvements sanguins ou urinaires sont trop tardifs, en augmentant la fenêtre de détection à plusieurs semaines, voire plusieurs mois.

Les différentes matrices sont donc parfaitement complémentaires.

Mais malheureusement, dans de nombreux cas, la victime se manifeste tardivement, plusieurs semaines à plusieurs mois après les faits supposés. Les prélèvements sanguins et urinaires ne sont donc plus d'aucune utilité, respectivement, après une et deux semaines. Par conséquent, les analyses capillaires sont les seuls outils susceptibles de donner des informations, la limite étant la longueur des cheveux. Dans la mesure du possible, la mèche de cheveux est segmentée, de façon adaptée à chaque cas, afin d'analyser puis de comparer la partie de la tige pilaire correspondant approximativement à la période de l'agression et les segments antérieurs et/ou postérieurs. Ainsi, si une substance est retrouvée dans tous les segments, le résultat est en faveur de prises régulières, alors que si elle n'est présente que dans le segment d'intérêt, cette prise pourrait effectivement correspondre à un composé administré au moment des faits.

Un inconvénient majeur des prélèvements capillaires est la faible quantité disponible (quelques dizaines de milligrammes par segment), rendant donc indispensable la mise en œuvre de recherches larges, tels un screening ou des méthodes permettant la détection de nombreuses molécules en même temps. Certains composés, comme le LSD ou le flunitrazépam, sont plus difficiles à mettre en évidence en raison d'une dégradation par les rayons Ultra-Violet (UV). Les traitements capillaires, tels que les colorations ou les permanentes, ont également tendance à dégrader les xénobiotiques fixés dans les cheveux.



## II.1.3. LES TECHNIQUES ANALYTIQUES

### II.1.3.1. L'IMMUNOCHIMIE

Les techniques immunochimiques sont très utilisées en toxicologie biologique pour dépister des surdosages (intoxications). Ces analyses sont rapides et donc adaptées à l'urgence. Cependant, elles sont généralement qualitatives, et nécessitent régulièrement un dosage par une autre méthode spécifique pour évaluer la gravité de l'intoxication. L'inconvénient majeur de ces techniques est le manque de spécificité : il existe de nombreuses réactions croisées avec d'autres composés que ceux recherchés ; ce sont des faux positifs.

En soumission chimique, les dépistages par techniques immunochimiques doivent être proscrits [29] :

- Effectivement, les seuils de positivité sont supérieurs à une concentration obtenue pour une prise unique car ils sont destinés au diagnostic d'intoxications massives. Ils sont donc insuffisamment sensibles, à l'origine de nombreux faux négatifs dans un contexte de soumission médicamenteuse.
- De plus, beaucoup de produits pouvant être utilisés dans ce contexte ne réagissent pas avec les anticorps présents dans les kits immunochimiques. C'est le cas par exemple du zolpidem, du LSD ou de la doxylamine.
- Enfin, dans le cas des dépistages de « famille » (par exemple, les benzodiazépines), ils ne permettent en aucun cas une identification.

Ces techniques ne permettent donc pas de mettre en évidence une soumission chimique. Par conséquent, les analyses toxicologiques lors de cas de soumission chimique nécessitent des méthodes avec une sensibilité et une spécificité plus élevées : les techniques chromatographiques.

### II.1.3.2. LES TECHNIQUES CHROMATOGRAPHIQUES

L'équipement analytique minimum préconisé en 2003 par l'AFSSaPS pour la recherche et le dosage de produits psychoactifs se composait :

- d'un chromatographe en phase liquide couplé à une barrette de diodes (CL-UV/BD),
- et d'un chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse (CG-SM) [21].

Coupler une chromatographie avec un détecteur par spectrométrie de masse en tandem (SM/SM) permet d'augmenter davantage la sensibilité en obtenant des limites de détection de l'ordre du µg/L voire inférieures, tout en étant plus spécifique encore que les méthodes précédentes. Bien que plus coûteux à l'investissement, ces appareils sont devenus indispensables lors d'investigations toxicologiques dans le cadre de soumissions chimiques.

Pour illustrer les capacités de différentes techniques analytiques, une étude a été réalisée par la SFTA, sur neuf volontaires sains. Elle impliquait l'administration des molécules et doses suivantes à des volontaires :

- lorazépam, 1cp à 2,5 mg,
- bromazépam, 1 cp à 6 mg,
- flunitrazépam, 1 cp à 3 mg,
- clonazépam, 1 cp à 2 mg,
- zolpidem, 1 cp à 10 mg,
- zopiclone, 1 cp à 7,5 mg.

Des prélèvements urinaires étaient ensuite recueillis toutes les 12 heures pendant 6 jours et conservés à - 20 °C. Les composés et leurs métabolites ont ensuite été recherchés par des techniques immunochimiques (FPIA et CEDIA), CL-UVBD, CG-SM, CL-SM et CL-SM/SM) [3]. Les résultats sont présentés dans le **Tableau 2**. Ces derniers démontrent sans conteste les limites de l'immunochimie et l'utilisation indispensable de la CL-SM/SM pour documenter les cas de soumission chimique. Grâce à un seuil de détection très faible, cette technique permet d'augmenter considérablement la fenêtre de détection des molécules.

**Tableau 2** : Fenêtres de détection en heures de benzodiazépines ou molécules apparentées selon plusieurs techniques [3].

Molécule	FPIA	CEDIA	CL-UVBD	CG-SM	CL-SM	CL-SM/SM
Lorazépam	ND	96 h	ND	84 h	84 h	144 h
Bromazépam	ND	48 h	12 h	72 h	84 h	144 h
Hydroxybromazépam	ND	ND	36 h	24 h	108 h	144 h
7-aminoflunitrazépam	ND	48 h	36 h	48 h	96 h	144 h
7-aminoclonazépam	ND	96 h	12 h	132 h	144 h	144 h
Zolpidem	ND	ND	24 h	12 h	60 h	144 h
Zopiclone	ND	ND	12 h	ND	48 h	120 h

ND : non détecté

**Tableau 3** : Fenêtres de détection de substances utilisées en soumission chimique, dans le sang, l'urine et les cheveux ; exemple de techniques de screening et de techniques de méthodes spécifiques permettant la mise en évidence de ces molécules.

	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9	J10	J11	J12	J13	J14	S3	S4	> S4	Technique screening	Technique spécifique
<b>Ethanol</b>	S																	HS-CG-SM	CG-FID
	U																	-	-
<b>Ethylglucuronide</b>	CH																	-	-
	S																	-	IC
<b>U</b>	U																	-	-
	CH										1							-	CL-SM/SM
<b>Benzodiazépines et apparentés</b> Ex : clonazépan	S																	CL-SM/SM	CL-SM/SM
	U																	CL-SM/SM	CL-SM/SM
<b>Ex : 7-amino-clonazépan</b>	CH																	CL-SM/SM	CL-SM/SM
	S																	CL-SM/SM	CL-SM/SM
<b>GHB</b>	U																	CL-SM/SM	CL-SM/SM
	CH																	-	CG-SM
<b>LSD</b>	S																	-	CL-SM/SM
	U																	CL-SM/SM	CL-SM/SM
<b>2-oxo-3-hydroxy-LSD</b>	CH																	CL-SM/SM	CL-SM/SM
	S																	CL-SM/SM	CL-SM/SM
<b>Anti-histaminiques</b> HI	U																	CL-SM/SM	CL-SM/SM
	CH																	CL-SM/SM	CL-SM/SM
<b>Anti-cholinergiques</b> Ex : scopolamine	S																	CL-SM/SM	CL-SM/SM
	U																	CL-SM/SM	CL-SM/SM
<b>CH</b>	CH																	CL-SM/SM	CL-SM/SM

	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9	J10	J11	J12	J13	J14	S3	S4	> S4	Technique screening	Technique spécifique
THC	S																	CG-SM	CG-SM
	U																	CL-SM/SM	CL-SM/SM
THC-COOH	CH																	CL-SM/SM	CL-SM/SM
	S																	CG-SM	CG-SM
Cocaine	U				4													CL-SM/SM	CL-SM/SM
	CH																	CG-SM	CG-SM
Benzoylécgonine	S																	CL-SM/SM	CL-SM/SM
	U																	CG-SM	CG-SM
Kéramine	CH																	CL-SM/SM	CL-SM/SM
	S																	CG-SM	CG-SM
Déhydro-norkétamine	U																	CL-SM/SM	CL-SM/SM
	CH																	CG-SM	CG-SM

- 1 : Marqueur d'éthylisme chronique
- 2 : Substance endogène toujours présente dans les cheveux
- 3 : Instabilité du LSD aux rayons UV
- 4 : Pour un consommateur occasionnel

## II.2. NOUVELLES MÉTHODES ANALYTIQUES DÉVELOPPÉES POUR LES CAS DE SOUMISSION CHIMIQUE

Comme nous l'avons expliqué précédemment, la liste des molécules à rechercher dans un contexte de soumission chimique est conséquente, entraînant une multiplication des analyses à effectuer. Or, la quantité des prélèvements est généralement limitée à une dizaine de millilitres (mL) pour le sang, quelques dizaines de millilitres pour l'urine et quelques dizaines de milligrammes (mg) pour les cheveux. Par conséquent, le nombre d'analyses pouvant être réalisées est restreint par le volume ou la masse de prélèvement disponible. Il est donc très intéressant de disposer d'une seule méthode analytique pour déterminer simultanément la présence ou l'absence de plusieurs dizaines de xénobiotiques, afin de surmonter cette difficulté.

En conséquence, l'objectif de ce travail personnel était le développement d'une méthode de détection et de quantification des principales substances utilisées en soumission chimique dans les cheveux, puis dans le sang et l'urine.

### II.2.1. DÉTECTION ET QUANTIFICATION DE 35 PSYCHOTROPES (OU MÉTABOLITES) DANS LES PRÉLÈVEMENTS CAPILLAIRES

#### II.2.1.1. DÉFINITION DE LA LISTE DES MOLÉCULES À RECHERCHER

- **Listes officielles**

La première étape pour définir les molécules à inclure dans cette nouvelle méthode, consiste à reprendre le « minimum requis » que constituent les listes officielles établies par les autorités et les sociétés savantes citées précédemment.

Tout d'abord, la référence française est la liste commune de l'AFSSaPS et de la SFTA [3,21]. Les composés ou familles de composés mentionnés sont : l'alcool éthylique, les benzodiazépines et molécules apparentées, les antihistaminiques H1 et sédatifs, les anticholinergiques, le méprobamate, le GHB, la kétamine, les cannabinoïdes, les opioïdes, la cocaïne, le LSD et les amphétamines.

Ensuite, la liste élaborée par la SOFT (**Annexe 2**) [22] nécessite d'être révisée et adaptée à la France puisque certains médicaments cités ne sont pas disponibles dans notre pays. De plus, plusieurs xénobiotiques mentionnés ne s'incorporent que peu voire pas du tout dans les cheveux et il est donc inutile de chercher à les inclure dans une méthode analysant des prélèvements capillaires.

Enfin, les composés figurant dans les contrôles de qualité de la SFTA (**Annexe 3**) [23] sont en nombre réduit par rapport aux autres listes, mais ils constituent le strict minimum. Toutes ces molécules doivent donc être incluses dans des méthodes chromatographiques analysant les prélèvements capillaires.

- **Données épidémiologiques**

Depuis 2003, l'AFSSaPS a mis en place une enquête prospective annuelle afin de disposer de données exhaustives sur les cas de soumission chimique en France, grâce notamment aux cas déclarés par les CEIP et les toxicologues. Jusqu'à présent, les résultats de 5 enquêtes ont été publiés et rapportent les substances identifiées dans divers milieux biologiques (**Annexe 4**) [1,8–11].

Entre 2003 et 2009, 103 dossiers de soumission chimique (avérée ou supposée) ont été traités dans le service de pharmacologie, toxicologie et pharmacovigilance du CHU de Limoges. Les résultats des analyses dans les divers milieux biologiques ont été listés à l'**annexe 5**.

De plus, de très nombreux cas ont été rapportés dans la littérature [4,30–37].

L'objectif de l'étude de ces données épidémiologiques est de recenser de manière la plus complète possible les molécules déjà identifiées dans des cas avérés de soumission chimique et de vérifier s'il est justifié de les rechercher systématiquement et, par conséquent, de les inclure dans la méthode développée dans ce travail.

- **Analyses existantes dans le service de toxicologie**

Le service de pharmacologie, toxicologie et pharmacovigilance du CHU de Limoges possède déjà plusieurs méthodes de dosages de xénobiotiques dans les prélèvements capillaires :

- Cannabinoïdes par CG-SM
- Opioïdes, cocaïne et amphétamines par CL-SM/SM
- LSD par CL-SM/SM
- Fentanyl, alfentanil, sufentanil (et leur métabolites) par CL-SM/SM
- Benzodiazépines par CL-SM/SM
- GHB par CG-SM/SM.

L'objet de ce projet est d'apporter un complément aux analyses existantes, nécessaire à une meilleure documentation des cas de soumission chimique, et de le grouper avec une ou plusieurs méthodes existantes.

- **Choix des molécules à rechercher**

Après examen des listes officielles et des données épidémiologiques, il est devenu évident, de par leur prévalence, qu'il fallait inclure à la méthode « psychotropes » toutes les benzodiazépines rapportées dans les enquêtes nationales. Nous avons également décidé d'inclure 2 métabolites qui, grâce à leur fonction amine se fixent facilement dans les cheveux : 7-aminoclonazépam et 7-aminoflunitrazépam.

Ensuite, tous les xénobiotiques pouvant être présents dans les contrôles de qualité externes de la SFTA ont été rajoutés à la liste des psychotropes, d'autant plus que ces 10 molécules ont déjà été identifiées dans plusieurs (voire nombreux) cas avérés de soumission chimique.

5 autres substances non mentionnées dans les listes officielles mais identifiées dans plusieurs cas avérés ont également été ajoutées à la méthode afin d'être en mesure de les détecter dans des cas futurs. Il s'agit du propoxyphène, du tramadol, de la buprénorphine, de la méthadone et du LSD. Depuis 2010, le propoxyphène a été progressivement retiré du marché français mais est encore disponible dans d'autres pays et beaucoup de personnes en ont acheté en quantité en prévision de son retrait. Profitant du sort du propoxyphène, le tramadol est devenu très largement prescrit. Par conséquent, il est très facile de s'en procurer de nos jours. Quant aux TSO, la buprénorphine et la méthadone, ils sont régulièrement détournés de leur AMM et retrouvés sur le marché noir, parfois pour être utilisés dans un but de soumission chimique.

En revanche, les stupéfiants n'ont pas été intégrés à cette technique car des méthodes spécifiques ne nécessitant qu'une faible prise d'essai ont déjà été développées dans le service de pharmacologie, toxicologie et pharmacovigilance du CHU de Limoges.

Au total, 35 molécules ont été retenues : alimémazine, alprazolam, bromazépam, buprénorphine, clobazam, clonazépam, 7-aminoclonazépam, cyamémazine, diazépam, diphenhydramine, doxylamine, flunitrazépam, 7-aminoflunitrazépam, halopéridol, hydroxyzine, kétamine, lévomépromazine, loprazolam, lorazépam, lormétazépam, LSD, méthadone, midazolam, niaprazine, nordazépam, oxazépam, prazépam, propoxyphène, scopolamine, témazépam, tétrazépam, tramadol, triazolam, zolpidem, et zopiclone.

L'**annexe 6** est un tableau récapitulatif des composés inclus dans la méthode « psychotropes » et leurs critères de sélection. Ce tableau permet de voir que toutes les molécules choisies sont citées dans les listes officielles et ont été identifiées dans au moins un cas, excepté le tramadol qui n'est

pas mentionné sur les listes mais qui a été retrouvé dans plusieurs cas avérés de soumission chimique.

Ensuite, 5 étalons internes (EI) ont été choisis. Ces EI sont tous des isotopes deutérés de molécules recherchées par la méthode « psychotropes » : buprénorphine-d4, flunitrazépam-d7, LSD-d3, méthadone-d9 et scopolamine-d4. L'intérêt des composés deutérés est qu'ils possèdent les mêmes propriétés physico-chimiques que leur homologue non deutéré concernant l'extraction et l'élution lors de la chromatographie.

## II.2.1.2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

- **L'étape pré-analytique**

- Décontamination

Lors de la réalisation des prélèvements capillaires, les cheveux doivent être coupés au ras du cuir chevelu : la partie analysée du cheveu est la tige pileaire aérienne. Étant à l'air libre, la surface de la tige pileaire peut avoir été contaminée par la pollution (métaux lourds, pesticides,...), par des fumées (nicotine, cannabis,...) ou par transfert (en touchant une substance, puis en passant la main dans les cheveux, par exemple). La présence d'un xénobiotique à la surface des cheveux n'indique donc pas sa consommation active par l'individu [30].

Avant toute analyse, une étape de décontamination des prélèvements est indispensable. Pour cela, les mèches sont trempées dans plusieurs bains. Il existe différentes techniques selon le nombre et la durée des bains, et la ou les solutions employées. Le solvant le plus utilisé dans la littérature est le dichlorométhane [33,38–43].

Dans le service de pharmacologie, toxicologie et pharmacovigilance du CHU de Limoges, la méthode actuellement retenue est :

- 2 bains de 2 minutes dans de l'eau désionisée pour éliminer les substances hydrophiles,
- suivis de 2 bains d'1 minute dans du dichlorométhane pour éliminer les composés organiques.

Les cheveux doivent être correctement séchés dans du papier absorbant après chaque bain.



La durée des bains est relativement courte pour ne pas éliminer les xénobiotiques pouvant être présents dans les couches internes des cheveux. Les solutions de lavage de dichlorométhane sont évaporées à sec sous courant d'azote, à température ambiante, puis conservées dans le but d'être analysées en même temps que les échantillons.

○ Segmentation

Il est admis que les cheveux poussent d'environ 1 cm par mois (entre 0,9 et 1,2 cm). Par conséquent, après la décontamination, on peut choisir d'analyser les cheveux de deux manières différentes :

- soit une analyse globale, c'est-à-dire que la mèche de cheveux est analysée dans son ensemble,
- soit une analyse après segmentation, c'est-à-dire que chaque segment, correspondant à une certaine période, est analysé séparément.

Tout d'abord, l'analyse globale ne permet pas de dater approximativement une consommation ou de documenter son évolution. Pour une mèche de X cm de long, on pourra seulement affirmer ou infirmer la prise de substances pendant les X mois précédant la réalisation du prélèvement. Cependant, la détection d'une prise unique par analyse globale est peu probable car la concentration est diluée sur toute la longueur de la mèche. Ce type d'analyse est donc généralement celui des cheveux courts (moins de 3 cm).

Pour les cheveux plus longs, il est régulier d'analyser plusieurs segments. Les sections et la longueur des segments dépendent du délai entre les faits avérés ou supposés et la réalisation des prélèvements. En effet, il faut être sûr d'encadrer la période des faits. Or, plus le délai est long, plus la zone correspondante sera dispersée en raison de la différence de vitesse de pousse entre chacun des cheveux de la mèche (nous rappelons que la vitesse d'1 cm par mois n'est qu'une moyenne). Il faudra donc analyser un segment d'autant plus grand que le prélèvement est effectué longtemps après les faits. Pour une segmentation nette et précise, la mèche est enroulée de façon très serrée dans du papier aluminium. Ensuite, les cheveux sont coupés à l'aide d'une paire de ciseaux préalablement décontaminés dans une solution de dichlorométhane.

○ Broyage

Avant de procéder à l'extraction, les cheveux doivent être soit coupés très finement, soit broyés. Cette étape permet une meilleure extraction des molécules de la matrice. Chaque technique possède ses avantages et ses inconvénients (**Tableau 4**). Le choix se fait en fonction des caractéristiques des composés à analyser et de la quantité d'échantillon.

**Tableau 4** : Caractéristiques comparées du broyage et de la section fine.

	Broyage	Section fine
Principe	Broyeur à boulets : tube métallique renfermant des billes dans un agitateur oscillant, ou cônes en plastique contenant des billes dans une centrifugeuse. ( <b>Figures 6 et 7</b> )	Découpe en segments très fins (environ 1 mm) avec des ciseaux préalablement décontaminés. ( <b>Figure 7</b> )
Avantages	Broyage très fin, donc contact favorisé entre les cheveux et les solvants d'extraction.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pas de chaleur donc pas de dégradation</li> <li>• Moins de perte</li> </ul>
Inconvénients	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Risque de contamination externe</li> <li>• Perte importante de prise d'essai</li> <li>• Technique abrasive à cause des frottements : détérioration possible de molécules et apparition de phtalates dans l'échantillon si utilisation de cônes en plastique</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Consommation en temps</li> <li>• Surface de contact entre les cheveux et le solvant réduite</li> <li>• Phénomène électrostatique</li> </ul>



**Figure 6** : Photos d'un broyeur à boulets et de l'agitateur oscillant.



**Figure 7 :** A gauche, cheveux coupés finement et à droite, cheveux broyés.

Pour la méthode « psychotropes », la section fine est préférée car :

- certaines molécules, notamment le LSD, sont très sensibles à la chaleur qui peut être occasionnée par les frottements entre les billes et le tube métallique du broyeur,
- cette analyse requiert 50 mg de prélèvement. Or, les quantités d'échantillons capillaires disponibles sont souvent limitées à quelques dizaines de milligrammes. Il faut donc réduire au maximum les pertes.

○ Incubation

Ensuite, les prélèvements capillaires finement coupés sont placés dans un solvant dans lequel les molécules recherchées sont facilement solubles afin de les extraire de la matrice, pendant un temps déterminé. Cette étape est appelée incubation ou hydrolyse.

Après étude de la littérature (**Tableau 5**), plusieurs solvants d'incubation ont été sélectionnés, puis testés :

- méthanol,
- méthanol avec 1 % d'acide formique,
- tampon Sorensen,
- tampon phosphate de potassium ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )
- et acide chlorhydrique (HCl).

**Tableau 5** : Protocoles d'incubation rencontrés dans la littérature.

Auteur	Molécules	Incubation
Chèze et.al. [31,32,39]	benzodiazépines	tampon Sorensen (pH 7,6) pendant une nuit à 56 °C
Villain et.al. [33,34,40]	benzodiazépines, niaprazine	tampon phosphate (pH 8,4) pendant une nuit
Kintz et.al. [35,36,44]	diphenhydramine, alprazolam	tampon phosphate (pH 8,4) pendant une nuit à 40 °C
Gaillard et.al. [38]	molécules basiques	acide chlorhydrique (HCl) 0,1 M pendant 12 h à 56 °C
McClellan et.al. [45]	benzodiazépines	méthanol
Cirimele et.al. [43]	benzodiazépines	tampon Sorensen (pH 7,6) pendant 2 h à 40 °C
Hadidi et.al. [46]	tramadol	HCl pendant une nuit à 60 °C
Müller et.al. [47]	psychotropes	méthanol pendant 2 h
Irving et.al. [48]	sédatifs	méthanol avec 2% d'acide trifluoroacétique pendant 16 h à température ambiante

Le méthanol a été choisi, car il peut solubiliser l'ensemble des molécules. Cependant, avec ce solvant, une fraction des composés peut rester fixée dans les cheveux car ils demeurent sous forme moléculaire donc lipophile. C'est pourquoi du méthanol avec 1% d'acide formique a également été testé : les molécules sont alors plutôt sous forme ionisée et donc sont davantage extraites de la matrice par le solvant. Le tampon Sorensen (pH 7,6) est le solvant le plus utilisé pour l'incubation dans les méthodes de recherche de benzodiazépines. Les composés de la méthode « psychotropes » étant en majorité des benzodiazépines, le tampon Sorensen a logiquement été testé pour ce travail. Le tampon  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , rencontré également dans la littérature, a été expérimenté mais à pH 5, et non 8,6, dans le but d'ioniser l'ensemble des molécules. Enfin, l'utilisation de l'acide chlorhydrique a permis de tester un pH très faible. À la suite de l'incubation, selon le solvant utilisé, plusieurs extractions ont été expérimentées (**Annexe 7**). Le critère d'évaluation de ces différents protocoles était l'importance de l'aire des pics chromatographiques obtenus pour chacun des composés.

Ces premières expérimentations ont mis en évidence de meilleurs résultats avec une incubation dans le tampon  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  pH 5 suivie d'une extraction liquide-liquide (**Annexe 7**). Cela démontre que pour l'analyse simultanée de plusieurs familles de composés, l'application du protocole utilisé pour la famille majoritaire n'est pas obligatoirement la plus satisfaisante. Un pH 5 semble être un bon

compromis pour que l'ensemble des molécules soient ionisées, facilitant leur extraction des prélèvements capillaires.

○ Extraction

Ensuite, l'extraction liquide-liquide sélectionnée lors de l'étape précédente a été optimisée à son tour. Le critère de jugement était le rendement d'extraction. Il est calculé par le rapport d'aire de la molécule ayant subi l'extraction sur l'aire de la même molécule n'ayant pas subi l'extraction (composé ajouté avant la reprise pour l'injection). Mais dans les deux cas, les étalons internes sont effectivement extraits.

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\frac{\text{Aire extrait}}{\text{Aire EI extrait}}}{\frac{\text{Aire non extrait}}{\text{Aire EI extrait}}} \times 100$$

Pour tous les tests en vue de l'optimisation de l'extraction liquide-liquide, 1 mL de soude à 0,25 N a été ajouté à chaque échantillon après l'incubation, afin de se placer dans les mêmes conditions c'est-à-dire à pH basique pour faciliter l'extraction des composés basiques par un solvant organique.

Dans un premier temps, plusieurs solvants d'extraction ont été testés purs :

- le dichlorométhane,
- l'éther,
- le chlorobutane
- et l'heptane.

Après addition du solvant organique, les échantillons étaient agités pendant 15 minutes puis centrifugés 5 minutes à 3000 tours/min. La phase organique était ensuite récupérée et placée sous un courant d'azote, à température ambiante pour être évaporée à sec. Le résidu était ensuite repris par une solution de tampon formiate 2 mM pH 3 / acétonitrile (TF/ACN) 90/10 (v/v) avant d'être injecté dans le système CL-SM/SM.

Les rendements d'extraction obtenus avec ces 4 solvants ont été calculés et comparés pour chacun des composés.

Les meilleurs résultats correspondent à l'extraction par le dichlorométhane, puis par l'éther mais certaines molécules ne sont extraites que par ce dernier (bromazépam, midazolam, témazépam, propoxyphène). En conséquence, ces deux solvants nécessitent d'être associés en un mélange d'extraction.

Dans un second temps, de nouveaux rendements d'extraction ont été calculés pour déterminer la proportion optimale des solvants de ce mélange. Les compositions testées sont : dichlorométhane/éther 80/20, 70/30 et 50/50 (v/v). Les rendements les plus importants ont été obtenus avec le mélange dichlorométhane à 70 % et éther à 30 %.

**Au total, le protocole de traitement pré-analytique retenu pour la méthode « psychotropes » est le suivant [49] :**

- Dans des tubes à fond rond de 15 mL, introduire successivement:

Concentration (pg/mg)	Gamme d'étalonnage									CQI (*)	Echantillon à analyser
	0	0,5	1	5	10	20	50	100	500	20	X
Cheveux vierges (mg)	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	-
Prélèvement capillaire à analyser (mg)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
Solution fille de psychotropes à 1 µg/L (µL)	-	25	50	-	-	-	-	-	-	-	-
Solution fille de psychotropes à 10 µg/L (µL)	-	-	-	25	50	100	-	-	-	-	-
Solution fille de psychotropes à 100 µg/L (µL)	-	-	-	-	-	-	25	50	-	-	-
Solution fille de psychotropes à 1000 µg/L (µL)	-	-	-	-	-	-	-	-	25	-	-
Solution fille de psychotropes à 10 µg/L (CQI) (µL)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	-
Solution d'E.I. à 0,1 mg/L (µL)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> pH 5 (mL)	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3

(\*) Contrôle de Qualité Interne

- Vortexer.
- Agiter pendant une nuit au bain-marie agitateur, à température ambiante.
- Centrifuger pendant 5 min à 3000 tr/min environ.
- Transférer le surnageant dans un tube à fond conique de 10 mL à l'aide d'une pasteurette.
- Ajouter 1 mL de NaOH 0,25 N et 5 mL du mélange dichlorométhane/éther (70/30 ; v/v).
- Agiter par retournement pendant 15 min environ.
- Centrifuger pendant 5 min à 3000 tr/min environ.
- Éliminer la phase aqueuse surnageante à l'aide d'une pompe à vide.
- Évaporer à sec la phase organique sous courant d'azote, à température ambiante.
- Reprendre le résidu sec par 70 µL de phase de reprise TF 2 mM pH 3 / ACN (90/10 ; v/v).
- Vortexer et centrifuger brièvement les tubes à 3000 tours/min.
- Injecter 20 µL dans le système CL-SM/SM.

- **La chromatographie**

- Instrumentation

Le système chromatographique utilisé pour développement de la méthode « psychotropes » est constitué :

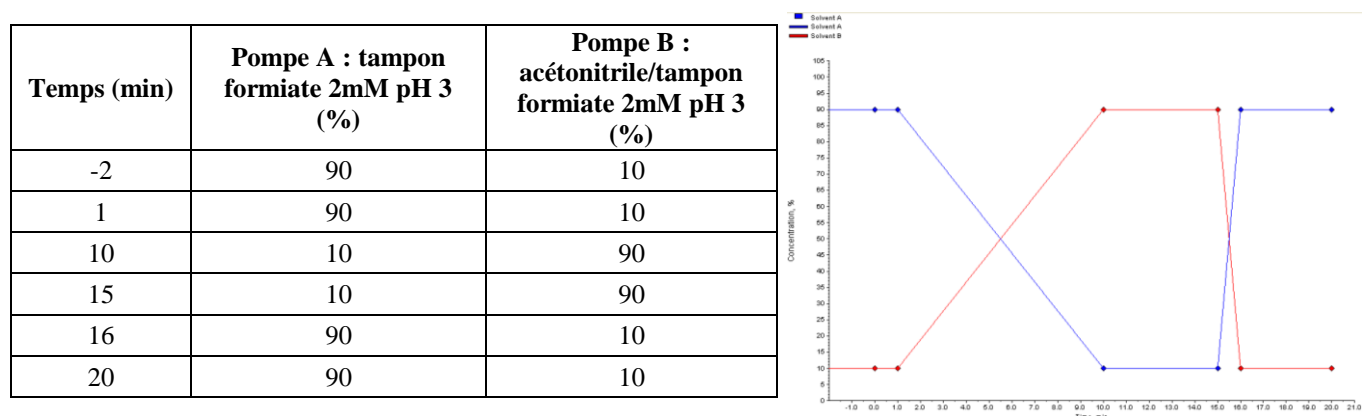
- d'un injecteur automatique Perkin Elmer series 200 thermostatée à 9 °C,
- de deux pompes Perkin Elmer series 200 micro LC pump délivrant un débit global de 200 µL/min,
- de connectiques Interchim de diamètre interne 0,13 mm.

La séparation des 35 composés est réalisée à température ambiante, sur une colonne chromatographique Atlantis T3 150 x 2,1 mm, 3 µm (Waters™).

La phase mobile sélectionnée est constituée d'un mélange de tampon formiate d'ammonium (TF) 2 mM à pH 3 (phase A) et d'acétonitrile (ACN) contenant 10 % de TF à pH 3 (phase B).

- Optimisation du gradient d'élution

Dans un premier temps, la séparation des molécules a été testée avec un gradient débutant par 90 % de phase A et 10 % de phase B et évoluant jusqu'à 10 % de phase A et 90 % de phase B (**Figure 8**).



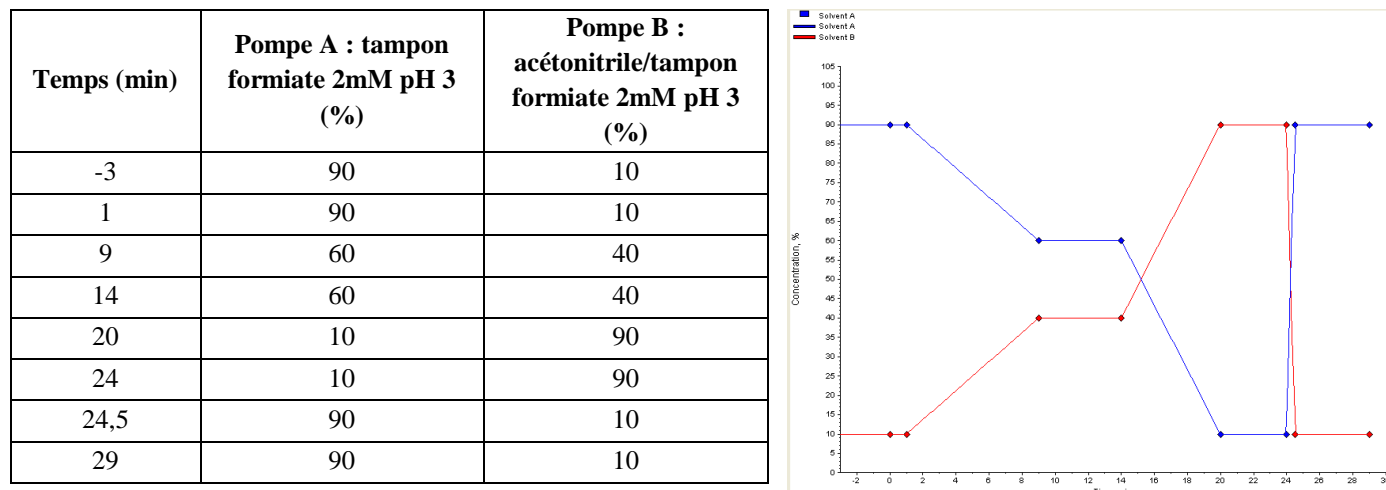
**Figure 8 :** Description du premier gradient de la phase mobile testé pour la méthode « psychotropes » dans les cheveux.

Le chromatogramme obtenu a démontré que l'utilisation d'un gradient était indispensable car les différents composés sont élués par des compositions de phase mobile variées (**Figure 10**) : une majorité de molécules est éluée aux alentours d'une composition en phase A de 60 % ; d'autres

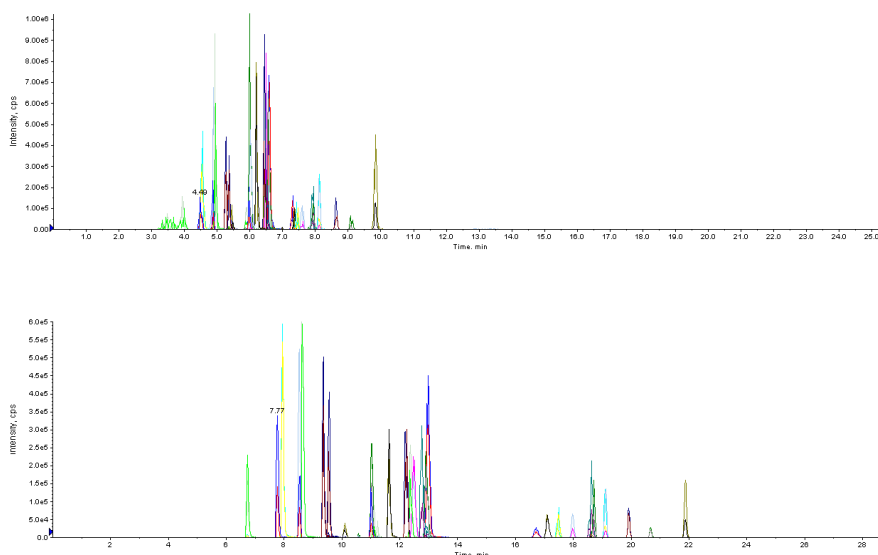


composés sont élués par des compositions, soit fortes en phase aqueuse, soit fortes en phase organique.

Ensuite, ce gradient a été ajusté en fonction des chromatogrammes obtenus en vue d'optimiser au maximum la séparation des solutés, notamment aux environs de 60 % de phase A. La meilleure séparation a été obtenue avec le dixième gradient testé (**Figures 9 et 10**).



**Figure 9** : Description du gradient retenu pour la séparation des molécules de la méthode « psychotropes » dans les cheveux.



**Figure 10** : Chromatogrammes des 35 molécules recherchées sur une colonne Atlantis T3 2,1 x100 mm et particules de 3 µm, en haut, avec le gradient décrit à la figure 8 et en bas, avec le gradient décrit à la figure 9.

Les modifications apportées au gradient ont doublé le temps d'analyse. Mais la séparation a été améliorée, notamment par le palier de 5 min à 60 % de phase A, et 40 % de phase B. Ce palier est indispensable, car une simple diminution de la pente du gradient ne s'est pas révélée concluante. L'absence d'élution observée entre 14 et 16 min n'a pu être diminuée malgré plusieurs tentatives d'ajustement.

L'utilisation de la spectrométrie de masse en tandem comme détecteur nous dispense du « retour à la ligne de base » entre chaque pic, puisque les transitions suivies pour les composés sont différentes. Il s'agit, en fait, d'un signal différent d'une substance à une autre. En effet, ce détecteur est capable de distinguer des molécules non séparées si elles ont des masses différentes. Cependant, pour ne pas perdre en sensibilité, le nombre de pics (donc de transitions) se chevauchant doit rester faible pour éviter un phénomène de compétition d'ionisation au sein de la source. Le chromatogramme obtenu avec le dernier gradient satisfait cette condition.

- **La détection par spectrométrie de masse en tandem**

- Instrumentation

Le spectromètre de masse en tandem utilisé pour le développement de la méthode « psychotropes » est un 3200 QTRAP commercialisé par la société AB Sciex<sup>TM</sup> (**Figure 11**). La source est de type électrospray et est utilisée en mode positif pour l'ionisation des 35 molécules de la présente méthode. L'analyseur est composé de trois quadripôles disposés en ligne. Les données sont acquises en mode scheduled Multiple Reaction Monitoring (sMRM). Ce mode permet de suivre des transitions entre les ions pseudo-moléculaires et les ions fils obtenus après fragmentation dans la cellule de collision, mais seulement pendant une durée définie avant et après le temps de rétention attendu des analytes. Pour la méthode « psychotropes », l'acquisition est réalisée pendant 1 minute de part et d'autre du temps de rétention attendu.



**Figure 11** : Photo du montage CL-3200 QTRAP du service de pharmacologie, toxicologie et pharmacovigilance du CHU de Limoges.

○ Optimisation des paramètres de détection

Chacune des 35 molécules a été infusée dans le spectromètre de masse afin d'optimiser leur détection et de définir les transitions à inclure dans la méthode. Les paramètres concernés sont :

- la tension d'orifice (DP : Declustering Potential),
- le potentiel d'entrée (EP : Entrance Potential),
- le potentiel d'entrée de la cellule de collision (CEP : Cell Entrance Potential),
- l'énergie de collision (CE : Collision Energy),
- et le potentiel de sortie de la cellule de collision (CXP : Cell Exit Potential).

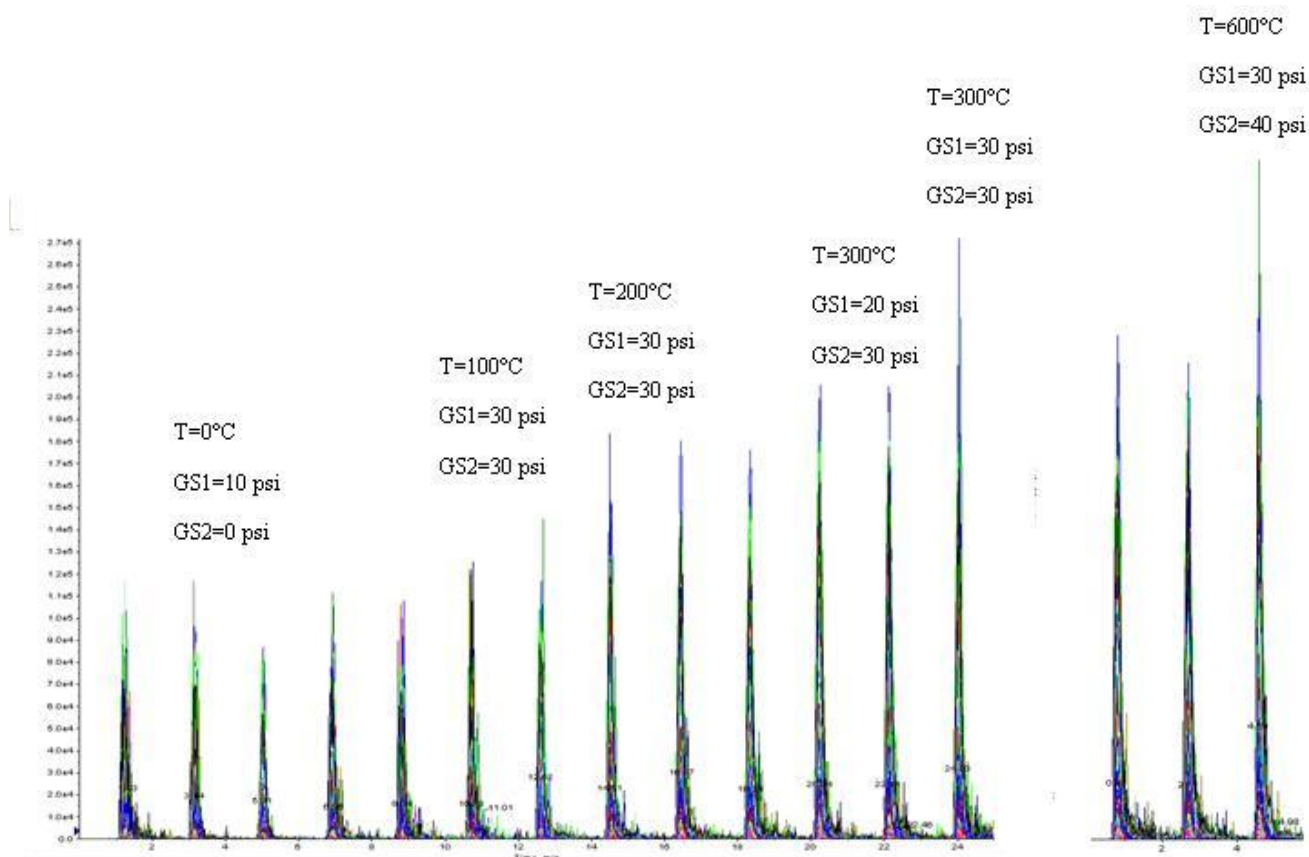
Deux transitions par molécule ont ainsi été déterminées, excepté pour la buprénorphine et le tramadol qui ne se fragmentent que très faiblement. Ces transitions et leurs paramètres sont détaillés à l'**annexe 8**.

Après l'optimisation des paramètres de détection spécifiques aux molécules recherchées, les paramètres de la source ont été à leur tour optimisés par Flow Injection Analysis (FIA) :

- la température dans la source,
- le débit du gaz de nébulisation (GS1),
- et le débit du gaz auxiliaire chauffant (GS2).

Pour cela, la colonne chromatographique a été retirée. Puis 2  $\mu\text{L}$  d'une solution à 0,5 mg/L dans un mélange TF/ACN (70/30 ; v/v) des 35 molécules retenues ont été injectés toutes les minutes. Entre 2 injections, les paramètres peuvent être modifiés et l'observation de l'évolution du signal permet

de déterminer ceux donnant la meilleure sensibilité. Les paramètres optimums de la source ont été obtenus à la 30<sup>ème</sup> injection réalisée lors de la FIA. Le chromatogramme ci-dessous présente quelques injections et l'évolution de signal selon les changements de paramètres (**Figure 12**). Cette optimisation permet d'augmenter la sensibilité d'un facteur 3.



**Figure 12** : Optimisation des paramètres de la source par la technique FIA pour l'ensemble des transitions de la méthode « psychotropes ».

- **Critères d'identification des composés**

L'identification d'une molécule est basée sur la réunion de 3 critères :

- le temps de rétention relatif (Trr), c'est-à-dire le temps de rétention du composé par rapport au temps de rétention de l'EI correspondant,
- la présence d'un pic chromatographique pour les 2 transitions observées,
- et l'intensité relative des transitions (I.R.T).

L'I.R.T. est considérée comme acceptable si elle est comprise entre 80 et 120 % de la valeur moyenne obtenue avec les étalons de calibration. Les EI avec les analytes correspondants, leurs Trr et I.T.R. sont donnés à l'**annexe 9**.

### II.2.1.3. DONNÉES DE VALIDATION

La méthode « psychotropes » [49] a été entièrement validée selon les recommandations internationales [50,51], et également en fonction des exigences de la norme ISO 17025 afin de satisfaire à une accréditation par le Comité Français d'Accréditation (COFRAC). Les paramètres étudiés sont les effets de matrice, la linéarité, les limites de détection et de quantification (LDD et LDQ), la fidélité et l'exactitude.

Avant de retenir définitivement le protocole d'extraction cité précédemment, une vérification de l'absence d'interférence entre la matrice et les molécules d'intérêt a été réalisée par évaluation de la suppression ionique. Des extraits de 6 types de cheveux vierges (blonds, châains, gris et 3 bruns) ont été injectés tandis que parallèlement, une solution des composés recherchés était infusée. Cette technique a permis de s'assurer qu'il n'existait pas de compétition d'ionisation significative entre la « matrice » et les analytes recherchés.

La linéarité est la capacité d'obtenir des signaux directement proportionnels à la concentration en substance à analyser de l'échantillon. L'étude de la linéarité s'étend sur cinq jours en réalisant cinq gammes comportant un blanc et au minimum trois niveaux de concentrations répartis sur le domaine de mesure. Ce paramètre est considéré comme acceptable si le coefficient de détermination  $r^2$  est supérieur ou égal à 0,99. Pour cette méthode, les courbes de calibration sont calculées en mode quadratique pondéré par  $1/x$  et leur linéarité a été vérifiée puisque leur coefficient de détermination était supérieur à 0,99 pendant toute la procédure de validation.

La limite de détection est appréciée expérimentalement comme étant la concentration minimale donnant un signal au niveau des 2 transitions. Elle peut être définie comme la concentration pour laquelle :

$$\frac{S}{N} \geq 3 \quad \text{avec } S = \text{signal et } N = \text{bruit de fond.}$$

La limite de quantification est la plus faible concentration pour laquelle :

- les 2 transitions montrent un pic chromatographique,
- la fidélité et l'exactitude ont été démontrées,
- et qui répond à la relation :  $\frac{S}{N} \geq 10$

Les LDD et LDQ obtenues pour la méthode « psychotropes » varient entre 0,5 et 5 pg/mg selon les analytes, excepté pour le lorazépam (10 pg/mg).

La fidélité exprime l'étroitesse de l'accord entre une série de mesures provenant de multiples prises d'un même échantillon dans des conditions définies. Elle s'exprime par la mesure de la répétabilité et de la fidélité intermédiaire. La répétabilité mesure la variabilité intra-jour des résultats. Elle consiste en cinq répétitions d'au moins trois niveaux de concentration (LDQ, une concentration intermédiaire et la concentration maximale). La fidélité intermédiaire mesure la variabilité inter-jour des résultats. Pendant cinq jours, on réalise une gamme d'étalonnage et un point pour chacun des 3 niveaux de concentration au minimum. Ces deux critères sont évalués par le calcul du coefficient de variation (CV%) qui doit être inférieur à 25 % pour la LDQ et à 20 % pour les autres niveaux de concentration. L'exactitude exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur de référence et la valeur expérimentale obtenue en appliquant la procédure d'analyse plusieurs fois. Elle fournit une indication sur les erreurs systématiques et est exprimée par le calcul du biais relatif. Comme le coefficient de variation, le biais relatif est acceptable s'il est inférieur à 25 % pour la LDQ et à 20 % pour les autres niveaux de concentration.

Tous les composés de la méthode « psychotropes » ont satisfait aux critères de fidélité et d'exactitude avec des CV% et biais relatifs inférieurs à 25 % à la LDQ et à 20 % aux autres niveaux de concentration. En réalité, tous les CV% et biais relatifs à la LDQ sont inférieurs à 20 %, excepté pour la diphenhydramine, le midazolam et la zopiclone.

Les données de validation sont rapportées à l'**annexe 10**.

#### II.2.1.4. DISCUSSION

De nos jours, les prélèvements capillaires sont couramment utilisés dans de plus en plus de laboratoires. Les toxicologues analystes sont donc conscients des difficultés analytiques rencontrées dans les cas de soumission chimique : la faible quantité de prélèvement disponible et les faibles concentrations à mettre en évidence pour les substances impliquées. Par conséquent, il apparaissait indispensable de réussir à développer une méthode multi-analytes avec de faibles LDD et LDQ.

Les LDD et LDQ obtenues dans la présente méthode sont très satisfaisantes car elles sont de l'ordre, ou même inférieures, à celles publiées précédemment.

Tout d'abord, concernant les benzodiazépines, Agius et Kintz [52] recommandaient une limite inférieure à 50 pg/mg pour le bromazépam, nordazépam, oxazépam, lorazépam, alprazolam, diazépam et flunitrazépam, soit 10 à 100 fois plus élevée que celle atteinte avec la méthode « psychotropes ».

Chèze et al. et Villain et al. étaient capables de détecter des benzodiazépines avec des LDQ comprises respectivement entre 2 et 10 pg/mg et entre 0,5 et 5 pg/mg en CL-SM/SM [31,53].

Ensuite, les benzodiazépines ont été déterminées par Morini et al. à des LDD inférieures à celles présentées ici mais avec des LDQ du même ordre [54].

Dans une méthode permettant la détermination de 24 benzodiazépines et analogues, Rust et al. ont atteint des LDQ entre 0,6 et 10 pg/mg [55]. Ces résultats sont meilleurs que ceux de la présente procédure pour seulement 5 analytes.

Ensuite, deux autres méthodes publiées ont inclus la recherche d'autres psychotropes que les benzodiazépines. Salomone et al. ont validé une méthode analytique incluant la kétamine et la scopolamine et obtenu des LDQ comprises entre 0,7 et 13,2 pg/mg [56]. Lendoiro et al. ont mis au point une méthode de quantification des benzodiazépines, kétamine, méthadone, LSD et scopolamine [57]. La majorité des LDQ qu'ils rapportent sont supérieures à celles obtenues avec la méthode présente.

Tous ces résultats sont résumés à l'**annexe 11**. Au total, les LDD et LDQ validées avec la méthode « psychotropes » sont comparables voire inférieures à celles publiées précédemment.

Comme cela a déjà été expliqué, un autre intérêt de la méthode « psychotropes » est la détection et la quantification simultanée de 35 psychotropes, qu'ils soient des médicaments ou des drogues.

Par conséquent, cette seule méthode est suffisante pour rechercher les principaux xénobiotiques utilisés dans un contexte de soumission chimique, même si la quantité de prélèvement disponible est limitée. Incluant un grand nombre de composés, des méthodes de screening dans les prélèvements capillaires ont déjà été publiées, mais elles étaient uniquement qualitatives [58,59].

D'autres méthodes quantitatives pour l'analyse de cheveux ont combiné la recherche de drogues illicites et de benzodiazépines [57,60–63]. Cependant, aucune n'incluait la détection d'hypnotiques tels que l'hydroxyzine, la diphenhydramine, la doxylamine ou la niaprazine bien que tous ces composés aient été formellement impliqués dans des cas de soumission chimique [14,33,35].

Suite à cette validation, la méthode « psychotropes » a été intégrée au catalogue d'analyses du service de pharmacologie, toxicologie et pharmacovigilance du CHU de Limoges et a donc été mise en œuvre pour 32 cas de soumission chimique. Elle a été utilisée soit pour une recherche large soit pour la mise en évidence d'une molécule précise. Ces nombreuses analyses ont permis de prouver l'utilité indéniable de cette technique analytique dans la documentation d'un éventuel agent de soumission chimique. Certains exemples sont d'ailleurs rapportés dans ce travail (cf. II.3.).



## II.2.2. TRANSPOSITION DE LA MÉTHODE « PSYCHOTROPES » DANS LE SANG ET L'URINE

À la suite de l'application réussie de la méthode « psychotropes » dans les prélèvements capillaires dans de réels cas de soumission chimique, l'intérêt de disposer d'une telle méthode dans les liquides biologiques conventionnels, c'est-à-dire le sang et l'urine, s'est imposé. En effet, même si ces matrices sont généralement prélevées en quantité suffisante pour réaliser plusieurs analyses, ce n'est pas une règle absolue. Une seule et unique méthode regroupant la recherche des principaux psychotropes utilisés en soumission chimique permet :

- d'économiser le volume du ou des échantillons,
- d'économiser du temps,
- et de disposer plus rapidement de l'ensemble des résultats.

### II.2.2.1. DÉFINITION DE LA LISTE DES MOLÉCULES À RECHERCHER

L'objectif de cette méthode dans le sang et l'urine est identique à celui de la méthode capillaire : rechercher et quantifier simultanément les principales molécules utilisées dans un contexte de soumission chimique. La liste de départ est donc composée des 35 psychotropes et métabolites recherchés dans les prélèvements capillaires. Aucun autre psychotrope n'a été ajouté. En revanche, de nombreux métabolites sont venus compléter la liste initiale afin d'élargir la fenêtre de détection des xénobiotiques recherchés.

Ces métabolites, qui ne se fixent que peu ou pas dans les phanères, prennent toute leur importance dans le sang, et surtout dans l'urine (cf. II.1.). En effet, les métabolites sont encore détectables dans le sang après l'élimination de la substance-mère de ce milieu. Quant à l'urine, les métabolites y sont présents en quantité souvent beaucoup plus importante que la substance-mère, et sont donc plus facilement et plus longtemps détectables dans cette matrice. Par exemple, le clobazam possède une demi-vie d'élimination qui varie de 35 à 40 heures tandis qu'un de ses métabolites, le norclobazam ou desméthylclobazam, a une demi-vie 2 fois plus importante (70 à 80 heures). Le clobazam est donc présent dans l'organisme pendant environ 8 jours après l'administration, alors que le norclobazam est présent pendant environ 17 jours.

Ainsi, pour chaque molécule, l'existence de métabolite(s) identifié(s) et disponible(s) sous forme de substance pure a été recherchée. Au total, la liste de la méthode « psychotropes » dans le sang et l'urine comporte 52 molécules (**Tableau 6**). Le prazépam en a été retiré car cette molécule est très instable :

- *in vivo*, il est très rapidement métabolisé en nordazépam dans le sang, si les fonctions hépatiques ne sont pas altérées,
- et *in vitro* il se dégrade également en nordazépam, faussant les gammes de calibration.

**Tableau 6** : Liste des 52 psychotropes et métabolites recherchés par la méthode « psychotropes » dans les échantillons sanguins et urinaires.

Substances-mères	Métabolites	Substances-mères	Métabolites
alimémazine		lorazépam	
alprazolam	hydroxyalprazolam	lormétazépam	
bromazépam	hydroxybromazépam	LSD, iso-LSD	nor-LSD, nor-iso-LSD, 2-oxo-3-hydroxy-LSD
buprénorphine	norbuprénorphine	méthadone	EDDP
clobazam	norclobazam	midazolam	1-hydroxymidazolam, 4-hydroxymidazolam
clonazépam	7-aminoclonazépam	niaprazine	
cyamémazine		nordazépam	
diazépam		oxazépam	
diphenhydramine		propoxyphène	norpropoxyphène
doxylamine		scopolamine	
flunitrazépam	7-aminoflunitrazépam	témazépam	
halopéridol	halopéridol réduit	tétrazépam	
hydroxyzine	cétirizine	tramadol	O-desméthyltramadol
kétamine	norkétamine, déhydronorkétamine	triazolam	hydroxytriazolam
lévomépromazine		zolpidem	
loprazolam		zopiclone	

## II.2.2.2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

- **L'étape pré-analytique**

- Pré-traitement

Avant d'extraire les psychotropes du sang et de l'urine, les échantillons nécessitent un pré-traitement.

Tout d'abord, le sang est purifié par déprotéinisation. Cette étape est réalisée par addition de 2 mL d'acétonitrile, provoquant la précipitation des protéines sanguines. L'échantillon est ensuite centrifugé et le surnageant est récupéré en vue de l'extraction à proprement parler.

Quant aux échantillons urinaires, leur pH est ajusté à 4,8 à l'aide d'un tampon acétate de sodium. Puis, ils sont placés dans un bain-marie à 56 °C pendant 1 heure en présence d'une enzyme, la  $\beta$ -glucuronidase. L'objectif de cette étape est de libérer les métabolites glucuroconjugués pour augmenter leur concentration sous forme libre et augmenter ainsi leur fenêtre de détection et la sensibilité de la méthode.

- Extraction

La liste des molécules recherchées dans le sang et l'urine reprenant celles recherchées dans les cheveux, les mêmes protocoles d'extraction ont été évalués en supprimant bien entendu l'étape d'incubation.

Les extractions testées étaient :

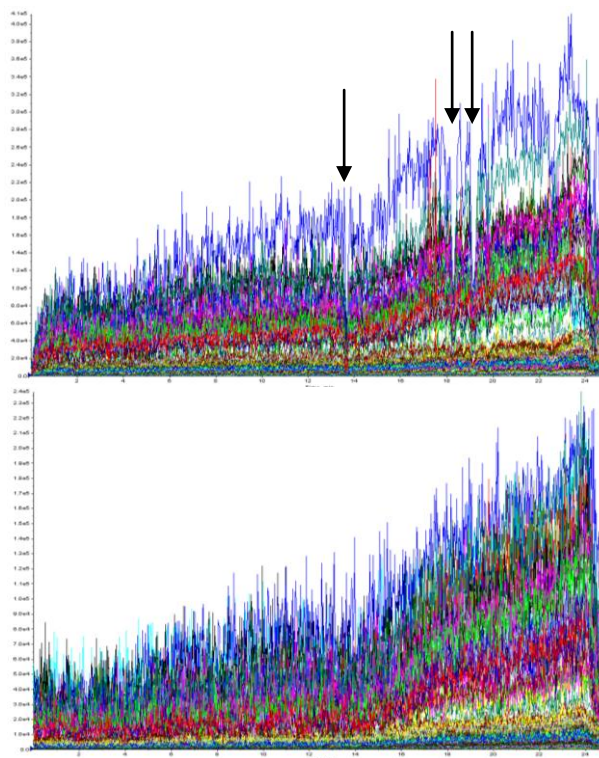
- l'extraction liquide-liquide par un mélange dichlorométhane/éther 70/30 (v/v) (extraction retenue pour les analyses capillaires),
- l'extraction sur phase solide (SPE) sur cartouches HLB et sur cartouches MCX mentionnées à l'**annexe 6**. Ces 2 extractions ont également été expérimentées en remplaçant le propan-2-ol contenu dans le solvant d'extraction par de l'éther pour se rapprocher des conditions d'extraction des cheveux.

Ces tests ont été réalisés en parallèle dans le sang et l'urine.

Le critère de sélection était l'importance de l'aire des pics chromatographiques obtenus pour chaque composé.

Dans un premier temps, la méthode par SPE sur cartouches HLB avec élution par un mélange dichlorométhane/éther (70/30 ; v/v) est apparue comme la plus sensible pour l'ensemble des molécules et ce à partir des 2 matrices. À l'opposé, l'extraction liquide-liquide a été rapidement écartée en raison d'un faible pouvoir d'extraction à partir du sang. Cependant, l'extraction sur cartouches HLB a révélé une limite rédhibitoire : un manque de spécificité. En effet, il existait un effet de matrice observé avec du sang et de l'urine recueillis auprès de 3 personnes différentes (**Figure 13**). Cet effet n'a pas pu être supprimé en modifiant la chromatographie. Ce phénomène nous a contraint à écarter cette procédure, qui semblait pourtant la plus sensible au premier abord.

L'effet de matrice a été évalué avec l'extraction sur cartouches MCX (**Figure 13**). La fixation des molécules sur la phase solide des cartouches MCX se fait par échange de cations et par affinité hydrophobe alors que seule l'affinité hydrophobe est mise en jeu avec les cartouches HLB. Les molécules sont donc davantage retenues par les cartouches MCX, autorisant un lavage éliminant un plus grand nombre de composés endogènes. En effet, aucun effet de matrice n'a été mis en évidence avec le sang ou l'urine pour cette extraction.



**Figure 13** : Comparaison du test de suppression ionique réalisé à partir du même échantillon sanguin après le protocole d'extraction sur cartouche HLB (en haut) et sur cartouche MCX (en bas).

Cette procédure a donc été sélectionnée, et de nouveaux essais ont permis de l'optimiser :

- Dans la procédure testée initialement, les cartouches MCX étaient lavées avec 2 mL d'eau, 1,5 mL d'acide chlorhydrique et 2 mL de méthanol. Ces 3 solutions de lavage ont été recueillies séparément puis analysées. Plusieurs psychotropes ont été retrouvés dans le méthanol : le clobazam et son métabolite, le lorazépam et le lormétazépam. Ce résultat montre que les interactions entre les molécules citées et les cartouches ne sont pas assez fortes, expliquant l'élution facilitée par le méthanol. La solution retenue était la diminution de la proportion de méthanol lors de la phase de lavage.
- Dans un second temps, cette extraction a été testée avec une élution par 2 mélanges de solvants : dichlorométhane/propan-2-ol d'une part, et dichlorométhane/éther tel qu'utilisé pour les cheveux d'autre part. La comparaison de l'importance des aires des pics chromatographiques a démontré que les 3 solvants étaient nécessaires pour extraire de façon optimale tous les composés. Certaines molécules, comme la cétirizine, sont davantage extraites par le propan-2-ol, tandis que d'autres, comme l'alimémazine, le sont davantage par l'éther. En conséquence, le solvant d'élution a été modifié pour devenir un mélange de dichlorométhane/éther/propan-2-ol avec 2 % d'ammoniaque.
- Ensuite, différentes compositions de dichlorométhane/éther/propan-2-ol ont été testées : 60/20/20, 50/25/25 et 40/30/30 (v/v). La variation de proportion de dichlorométhane et de propan-2-ol n'a pas montré d'influence sur l'importance de l'aire des pics chromatographiques. En revanche, les limites de détection obtenues pour les neuroleptiques étaient plus faibles avec une proportion d'éther de 30 %. La composition du mélange d'élution retenue est donc dichlorométhane/éther/propan-2-ol 50/30/20 (v/v).

**Au total, le protocole retenu pour la méthode « psychotropes » dans le sang et l'urine est le suivant :**

- Dans des tubes à fond rond de 15 mL, introduire successivement :

Concentration (µg/L)	Gamme d'étalonnage										Echantillon à analyser
	0	0,05	0,2	0,5	1	2	5	20	100	500	X
Matrice vierge (sang total ou urine) (µL)	1000	950	980	950	900	980	950	980	900	950	-
Prélèvement à analyser (µL)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1000
Solution fille de psychotropes à 1 µg/L (µL)	-	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Solution fille de psychotropes à 10 µg/L (µL)	-	-	20	50	100	-	-	-	-	-	-
Solution fille de psychotropes à 100 µg/L (µL)	-	-	-	-	-	20	50	-	-	-	-
Solution fille de psychotropes à 1 mg/L (µL)	-	-	-	-	-	-	-	20	100	-	-
Solution mère de psychotropes à 10 mg/L (µL)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50	-
Solution d'E.I. à 0,1 mg/L (µL)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25

Prélèvements sanguins :

- Ajouter 2 mL d'ACN.
- Vortexer.
- Centrifuger à 3000 tours/min.
- Transvaser le surnageant dans de nouveaux tubes de 15 mL.

Prélèvements urinaires :

- Ajouter 250 µL de tampon acétate de sodium à pH 4,8 et 20 µL de β-glucuronidase.
- Vortexer.
- Placer les tubes au bain-marie à 56°C pendant 1h.

Ensuite, pour tous les prélèvements :

- Ajouter 4 mL de tampon KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> pH 5.
- Placer les cartouches MCX sur l'extracteur et une première série de tubes à fond conique.
- Conditionner les cartouches avec 2 mL de méthanol puis 3 mL de tampon KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> pH5.
- Vider les tubes à fond conique et les replacer dans l'extracteur.

- Déposer en 2 fois les échantillons sur les cartouches.
- Vider les tubes à fond conique et les replacer dans l'extracteur.
- Laver successivement avec 1,5 mL d'HCl 0,1N et 2 mL d'eau/méthanol (50/50 ; v/v).
- Sécher les cartouches 15 min sous vide.
- Remplacer les tubes à fond conique (à éliminer) par une seconde série de tubes à fond conique.
- Éluer par 2 fois 3 mL du mélange dichlorométhane/éther/propan-2-ol (50/30/20 ; v/v) avec 2 % d'ammoniaque.
- Évaporer à sec, sous courant d'azote, à température ambiante, le contenu des tubes à fond conique.
- Reprendre le résidu sec par 70 µL de phase de reprise TF 2 mM pH 3 / ACN (90/10 ; v/v).
- Vortexer et centrifuger brièvement les tubes à 3000 tours/min.
- Injecter 20 µL dans le système CL-SM/SM.

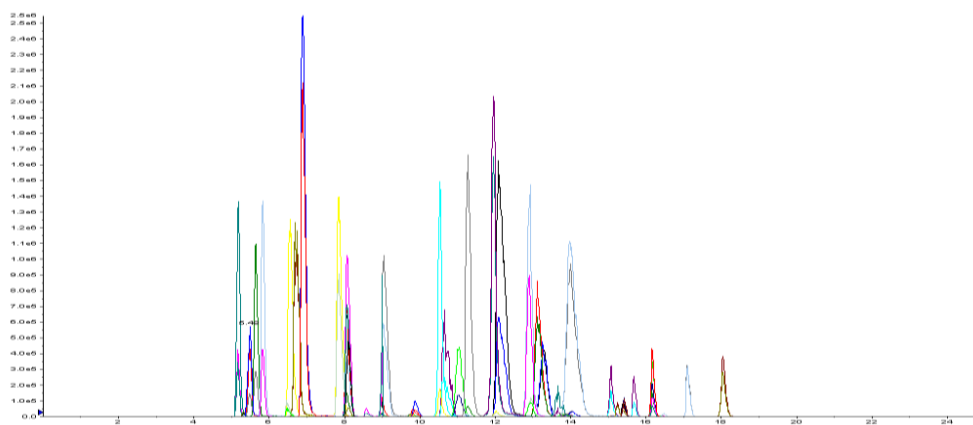
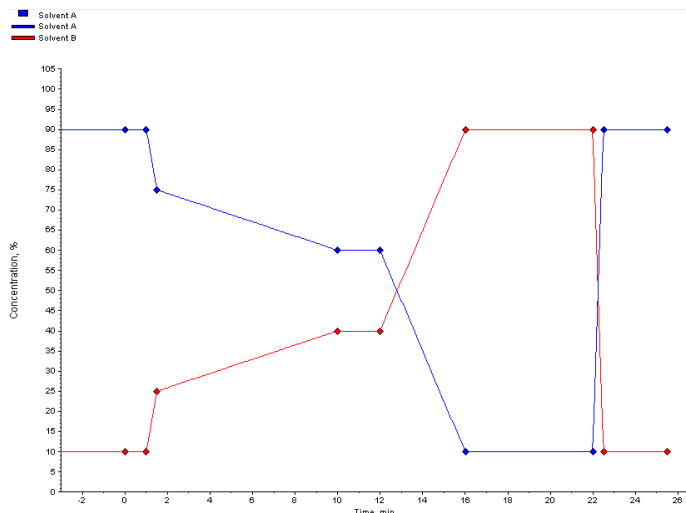
L'absence de suppression ionique a été vérifiée avec ce nouveau protocole d'extraction : une diminution du signal a été observée à 2 min. Cette observation n'a pas d'impact sur la méthode car toutes les molécules possèdent un temps de rétention supérieur à 4 min.

- **La chromatographie**

Le système chromatographique utilisé pour le développement de la méthode « psychotropes » dans le sang et l'urine est identique à celui utilisé pour la recherche de psychotropes dans les cheveux (cf. II.2.1.2.). La séparation des analytes est également réalisée sur la même colonne.

En revanche, le gradient d'élution a été modifié. La pente de la première portion du gradient a été diminuée, tandis que la durée du plateau à 60 % de phase A a été raccourcie. L'objectif était d'améliorer la séparation des composés dont la majorité est éluée pour une proportion inférieure à 60 % de phase A (**Figure 14**). Ces modifications permettent une meilleure répartition des analytes tout au long du chromatogramme. La durée totale d'une analyse est de 25,5 min.

Temps (min)	Pompe A : tampon formiate 2mM pH 3 (%)	Pompe B : acétonitrile/tampon formiate 2mM pH 3 (%)
-3	90	10
1	90	10
1,5	75	25
10	60	40
12	60	40
16	10	90
22	10	90
22,5	90	10
25,5	90	10



**Figure 14 :** Description du gradient de la méthode « psychotropes » dans le sang et l'urine et exemple d'un chromatogramme obtenu pour un étalon à une concentration de 500 µg/L.

- **La détection par spectrométrie de masse en tandem**

Tout comme le système chromatographique, la détection des composés est effectuée par le même spectromètre de masse en tandem que les analyses capillaires (cf. II.2.1.2.). Les paramètres de la source sont également identiques, puisqu'il n'a pas été jugé opportun de les modifier alors qu'ils avaient préalablement été optimisés pour la majorité des composés recherchés.

Chacune des molécules nouvellement incluses dans la méthode « psychotropes » a été infusée afin de déterminer les transitions à observer et les paramètres optimums de détection. 2 transitions ont été sélectionnées par composé, excepté pour le O-desméthyltramadol et la norbuprénorphine qui, comme leur substance-mère, ne se fragmentent que très peu. Ces transitions et leurs paramètres sont détaillés à l'**annexe 12**.



Comme pour la recherche de psychotropes dans les cheveux, l'identification d'une molécule est basée sur 3 critères :

- le temps de rétention relatif (Trr),
- la présence d'un pic chromatographique pour les 2 transitions observées,
- et l'intensité relative des transitions (I.R.T).

Les EI avec les analytes correspondants, leur Trr et les I.R.T. sont donnés à l'**annexe 13**.

### II.2.2.3. DONNÉES DE VALIDATION

La méthode « psychotropes » est en cours de validation dans le sang total, selon les exigences de la norme ISO 17025, en vue de satisfaire à une future accréditation par le COFRAC. Un accord entre matrices avec l'urine sera réalisé par la suite. Les paramètres qui ont été partiellement étudiés à ce jour sont : les effets de matrice, la linéarité, les LDD et LDQ.

Comme expliqué précédemment, l'absence d'interférence entre la matrice et les molécules d'intérêt a été vérifiée par évaluation de la suppression ionique après sélection du protocole d'extraction. Les extraits de 6 échantillons sanguins et autant d'échantillons urinaires provenant de volontaires parmi le personnel du laboratoire ont été étudiés. Un effet de matrice a été observé pour un seul prélèvement urinaire. Sur le chromatogramme, cette interférence était visible à 2 min, soit avant les temps de rétention des composés. Par conséquent, aucune compétition d'ionisation significative entre la matrice et les analytes recherchés n'a été mise en évidence.

L'étude de la linéarité n'a pour l'instant eu lieu que sur une seule journée de validation, avec une gamme de la LDQ à 500 µg/L. Les courbes de calibration sont calculées en mode quadratique pondéré par 1/x. Avec un coefficient de détermination supérieur à 0,99, la linéarité a été vérifiée pour tous les composés sur cette journée.

Cette même journée de validation a permis d'apprécier les LDD et LDQ envisageables. Elles sont rapportées à l'**annexe 14**. Les LDD et LDQ estimées à partir de la première journée de validation varient entre 0,05 et 5 µg/L selon les analytes. L'évaluation de la fidélité et de l'exactitude est cependant nécessaire pour confirmer les LDQ observées.

#### II.2.2.4. DISCUSSION

Dans la littérature, de nombreuses méthodes de quantification des benzodiazépines sont décrites. Mais elles sont souvent davantage adaptées au diagnostic d'intoxication qu'à la documentation de cas de soumission chimique car :

- la matrice est généralement le sérum ou le plasma, et non le sang total,
- les techniques utilisées sont la CG-SM ou la CL-UVBD, donc moins sensibles que la CL-SM/SM.

Par conséquent, il est difficile de comparer la méthode « psychotropes » avec aussi peu de méthodes publiées dans le sang et en CL-SM/SM.

Smink et al. rapportent une méthode permettant la détermination de 33 benzodiazépines et métabolites dans le sang total par CL-SM/SM [64]. Les LDD et LDQ obtenues sont comprises respectivement entre 0,1 et 6,8 µg/L, et 0,4 et 22,8 µg/L. Ces limites sont donc supérieures à celles observées pour la méthode « psychotropes » présentée ici.

Une autre méthode de quantification de 43 benzodiazépines dans le plasma par CL-SM/SM est décrite par Ishida et al. [65]. Cette méthode a été validée avec des LDD et LDQ comprises entre 0,2 et 10 µg/L, soit plus élevées que celles de la présente méthode.

La littérature est également limitée concernant la quantification simultanée de plusieurs familles de psychotropes dans le sang. Les méthodes publiées sont plus souvent réalisées dans les urines [66,67] ou sont uniquement qualitatives.

Au total, les LDD et LDQ sanguines, observées lors de la première journée de validation de la méthode « psychotropes », sont inférieures aux rares limites publiées précédemment. La méthode développée semble donc satisfaisante, d'autant plus qu'elle regroupe 52 molécules aux propriétés physico-chimiques variées. Bien entendu, la fidélité et l'exactitude nécessitent d'être évaluées dans un plan de validation complet afin de confirmer les performances entrevues...

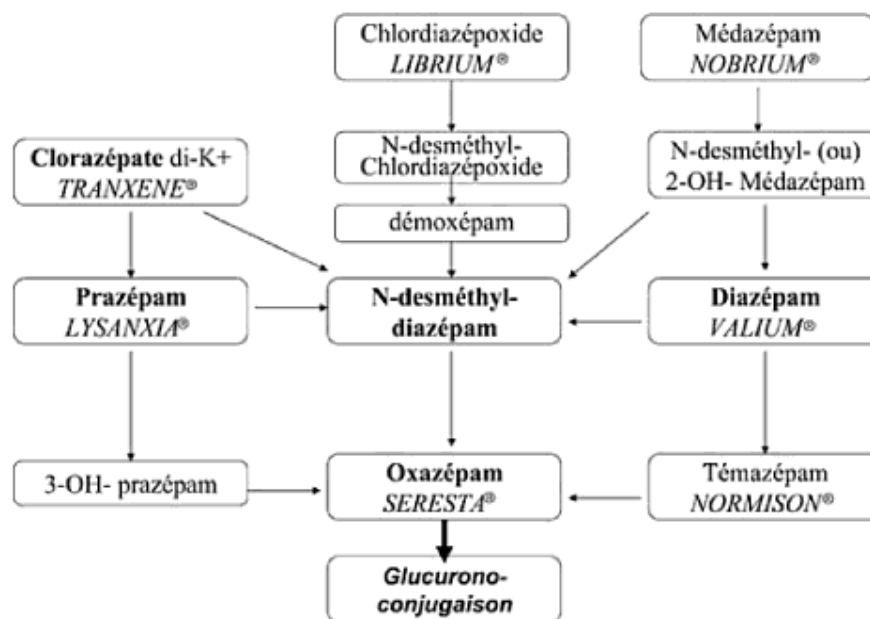
## II.3. PARTICULARITÉS DE L'ÉTAPE POST-ANALYTIQUE DANS LE CONTEXTE DE SOUMISSION CHIMIQUE

### II.3.1. INTERPRÉTATION PAR LE TOXICOLOGUE

Chaque cas de soumission chimique doit être documenté au mieux, mais le diagnostic toxicologique est souvent difficile et l'expert se doit de rester prudent lors de l'interprétation des résultats. Les principales difficultés rencontrées sont un délai important entre les faits et les prélèvements, les demi-vies courtes des substances utilisées, les faibles concentrations circulantes et l'instabilité chimique notamment pour les benzodiazépines, le LSD,...

#### II.3.1.1. CAS DES BENZODIAZÉPINES

Beaucoup de benzodiazépines ont un métabolisme commun (**Figure 15**). Certaines molécules, notamment le nordazépam et l'oxazépam sont à la fois des principes actifs (respectivement NORDAZ et SERESTA) et des métabolites. Leur mise en évidence permet de conclure à l'administration d'une benzodiazépine conduisant à ces métabolites, mais sans pouvoir conclure systématiquement quant à l'identité exacte de cette molécule. Pourtant l'identification de la substance utilisée peut être un élément décisif pour confondre un suspect.



**Figure 15** : Métabolisme commun à certaines benzodiazépines [2].

### II.3.1.2. CAS DU GHB

Cette substance endogène est également utilisée comme médicament et/ou drogue. Elle est retrouvée à des concentrations physiologiques de 2 mg/L dans le sang et 10 mg/L dans les urines [4]. Il faut donc interpréter les concentrations retrouvées pour préciser l'origine de cette substance dans l'organisme. De plus, cette molécule peut se former *in vitro*. Ce phénomène peut conduire à une surestimation de la concentration en GHB et à une conclusion erronée.

### II.3.1.3. CAS DES ANALYSES CAPILLAIRES

Bien que très utiles, les analyses capillaires, du moins leurs résultats, sont à interpréter avec beaucoup de précautions, tant sur le plan quantitatif, que sur l'estimation du moment de l'exposition.

Tout d'abord, dans les cheveux, les xénobiotiques se fixent à la mélanine qui est le pigment donnant sa couleur aux cheveux. Les cheveux bruns sont beaucoup plus riches en mélanine que des cheveux blonds. Par conséquent, les premiers sont en mesure d'incorporer davantage de xénobiotiques que les seconds. Il existe donc une forte variation inter-individuelle. De plus, les traitements capillaires tels que les colorations, les permanentes, etc., sont susceptibles de diminuer la concentration capillaire des composés. En effet, ils peuvent être à l'origine de ruptures des liaisons entre la mélanine et les xénobiotiques. En bref, la quantification dans les cheveux ne peut pas être précise mais elle donne un ordre d'idée et permet d'estimer s'il s'agit d'une exposition unique, de quelques prises itératives ou d'un traitement chronique.

Ensuite, il est important d'analyser les solutions de dichlorométhane ayant servi à la décontamination du prélèvement afin de distinguer une contamination externe d'une réelle incorporation, donc consommation.

Enfin, par consensus, la vitesse de croissance des cheveux est évaluée à 1 cm par mois. Mais en réalité, elle varie généralement entre 0,8 et 1,3 cm par mois. Cette variabilité existe entre deux individus distincts mais également chez un même individu. Donc tous les cheveux composant une mèche ne poussent pas à la même vitesse. Ainsi, plus on s'éloigne du cuir chevelu, plus le décalage entre les cheveux est important et plus l'incertitude quant à l'estimation de la période correspondante au segment augmente. Le toxicologue ne peut et ne doit donc pas donner une période précise d'exposition, mais seulement un intervalle.

Bien évidemment, en tant qu'expert judiciaire, ce n'est pas au toxicologue de déterminer le caractère volontaire ou non d'une consommation, et il doit prendre garde de ne donner aucun avis personnel dans son rapport d'expertise. Pourtant la question se pose belle et bien notamment lors de la mise en évidence de stupéfiants comme le cannabis. En effet, l'administration en space-cake est plus discrète que de faire passer un joint pour une cigarette. Cependant, l'expert doit garder un esprit ouvert à toutes les possibilités.

Tous les résultats, même négatifs, doivent être transmis à la personne ayant prescrit les analyses, qu'il s'agisse d'un médecin clinicien, d'un OPJ ou d'un magistrat, mais en aucun cas directement à la victime. Le toxicologue doit également déclarer les cas de soumission chimique supposés ou avérés mis en évidence par les analyses au CEIP régional, à l'aide d'un formulaire (**Annexe 15**) afin de compléter les données épidémiologiques de l'enquête nationale de l'AFSSaPS : son objectif est d'améliorer la prise en charge des victimes et la documentation toxicologique des cas de soumission chimique.

### II.3.2. INTERPRÉTATION PAR LA JUSTICE PÉNALE

Tout d'abord, il convient de rappeler que seuls les rapports médicaux, et résultats d'analyses toxicologiques, réalisés sur la base d'une réquisition judiciaire constituent des éléments de preuves opposables dans le cadre de l'enquête judiciaire.

De plus, l'administration de substances psychoactives dans un but délictuel ou criminel n'est pas reconnue de la même façon dans tous les pays. Certains la considèrent comme une circonstance aggravante du délit ou crime, tandis que d'autres en font un délit distinct.

#### II.3.2.1. À L'ÉTRANGER [6]

Les pays anglo-saxons tels que les États-Unis, le Royaume-Uni, la Nouvelle Zélande, sont des précurseurs dans la reconnaissance de la soumission chimique.

Dans ces pays, les substances souvent impliquées dans les cas de soumission chimique sont appelées « date rape drug », c'est-à-dire drogue du viol prémédité.

Les États-Unis sont un pays précurseur puisque dès octobre 1996, une loi fédérale a été promulguée, appelée « Drug-induced rape prevention and punishment act », soit l'acte de prévention et de sanction des viols induits par des drogues. Cet acte prévoit des sanctions pouvant

aller jusqu'à 20 ans de réclusion criminelle pour l'auteur d'administration d'une substance à autrui dans un but délictuel, ou criminel. La soumission chimique est donc pleinement reconnue comme une infraction depuis plus de 15 ans. Selon leur prévalence dans les cas de soumission chimique, certaines substances sont étroitement contrôlées, notamment le flunitrazépam et le GHB.

Au Royaume-Uni, la section 4 du Sexual Offences Act de 1956 traitait déjà de l'administration de xénobiotiques pour obtenir ou faciliter des rapports sexuels. Ce texte permet de considérer la soumission chimique comme une circonstance aggravante ou comme un délit à part entière.

Dans les autres pays européens, la position des tribunaux diffère d'un état à un autre.

En Espagne, la soumission chimique n'est pas reconnue comme une circonstance aggravante, mais est incluse dans la condamnation pour agression sexuelle sans augmenter la peine encourue.

En Italie, le code pénal (*Codice Penale*) reconnaît explicitement l'administration d'alcool ou de psychotropes comme une circonstance aggravante dans les cas de violences sexuelles. La soumission chimique peut être invoquée à l'aide de plusieurs articles. Tout d'abord, l'article 613 s'applique lorsque la victime est réduite à un état de conscience empêchant l'expression de son consentement. Ensuite, l'article 643 concerne les victimes atteintes de handicap ou déficience mentale, comme une diminution des capacités mentales due à l'administration de psychotropes par exemple. Enfin, la suppression de l'état de conscience d'autrui (hypnose, administration de psychotropes) est punie par l'article 728.

En Allemagne, l'agression d'une personne incapable de résister, comme c'est le cas lors d'une soumission chimique, entre dans le cadre de la section 179 du chapitre 13 du Code Pénal. Pourtant, malgré cette reconnaissance, la soumission chimique ne constitue pas une circonstance aggravante mais au contraire diminue la peine d'emprisonnement encourue.

#### II.3.2.2. EN FRANCE

En 2002, le législateur a reconnu la soumission chimique comme un délit à part entière en introduisant l'article 222-15 dans le Code pénal grâce à la loi n° 2002-1062 du 6 août 2002. Modifié ensuite en 2007, cet article stipule que « *l'administration de substances nuisibles ayant porté atteinte à l'intégrité physique ou psychique d'autrui est punie des peines mentionnées aux articles 222-7 à 222-14-1 suivant les distinctions prévues par ces articles* », soit de 10 à 30 ans de prison selon la gravité de l'incapacité physique entraînée. La loi en distingue l'empoisonnement comme

« le fait d'attenter à la vie d'autrui par l'emploi ou l'administration de substances de nature à entraîner la mort » (article 221-5 du Code Pénal), qui est puni d'une peine (maximale) de 30 ans de réclusion criminelle.

En pratique, la justice retient à l'encontre du prévenu seulement le délit ou crime principal, comme le vol ou le viol, et ne le poursuit pas pour l'administration de substances nuisibles.

La notion de soumission chimique est un facteur médico-légal qui permet d'étayer la présomption de crime ou délit, notamment pour les cas de viols. En effet, si la victime attend plusieurs jours avant de porter plainte pour viol, les traces physiques d'abus sexuels peuvent avoir disparu. Dans ce cas, l'enquête ne pourrait s'appuyer que sur les paroles de la victime et de l'agresseur supposé. Mais la toxicologie permet d'apporter de nouveaux éléments et de confirmer ou infirmer les dires des personnes concernées. En France, le premier cas de soumission chimique, reconnu selon l'article 222-15, a été jugé en 2003 par la justice pénale française [6]. L'agresseur, un policier suspecté de viol sur une collègue après lui avoir administré du GHB par l'intermédiaire d'une boisson alcoolisée, n'a été condamné que pour l'administration de GHB, faute de signes physiques prouvant l'agression sexuelle à l'examen de la victime.

Cependant, la soumission chimique signifie que l'agresseur a prémédité son agression, ce qui constitue une circonstance aggravante d'un délit ou d'un crime.

En droit pénal français, la préméditation est définie comme étant le « *dessein réfléchi, formé avant l'action, de commettre un crime ou un délit déterminé* » (article 132-72 du Code Pénal). L'auteur d'une infraction avec préméditation a donc prévu le mode opératoire de son infraction avant que celle-ci ne soit réellement réalisée. En effet, l'agresseur doit dans un premier temps se procurer une substance pour modifier l'état de conscience de sa victime, puis lui administrer et attendre que les effets se manifestent dans un second temps. Ceci démontre que l'acte n'est pas commis de façon impulsive, mais au contraire bien réfléchi. L'auteur des faits ne peut donc pas arguer d'un moment de folie passagère et est considéré pleinement conscient de ses actes avant que le crime ou le délit ne soit commis. C'est ce qui explique qu'il soit plus sévèrement sanctionné, notamment en matière d'atteintes volontaires à l'intégrité de la personne (articles 222-3, 222-8, 222-10, 222-12 du Code Pénal).

## II.3.3. EXEMPLES DE CAS AVÉRÉS DE SOUMISSION CHIMIQUE

### II.3.3.1. CAS N°1

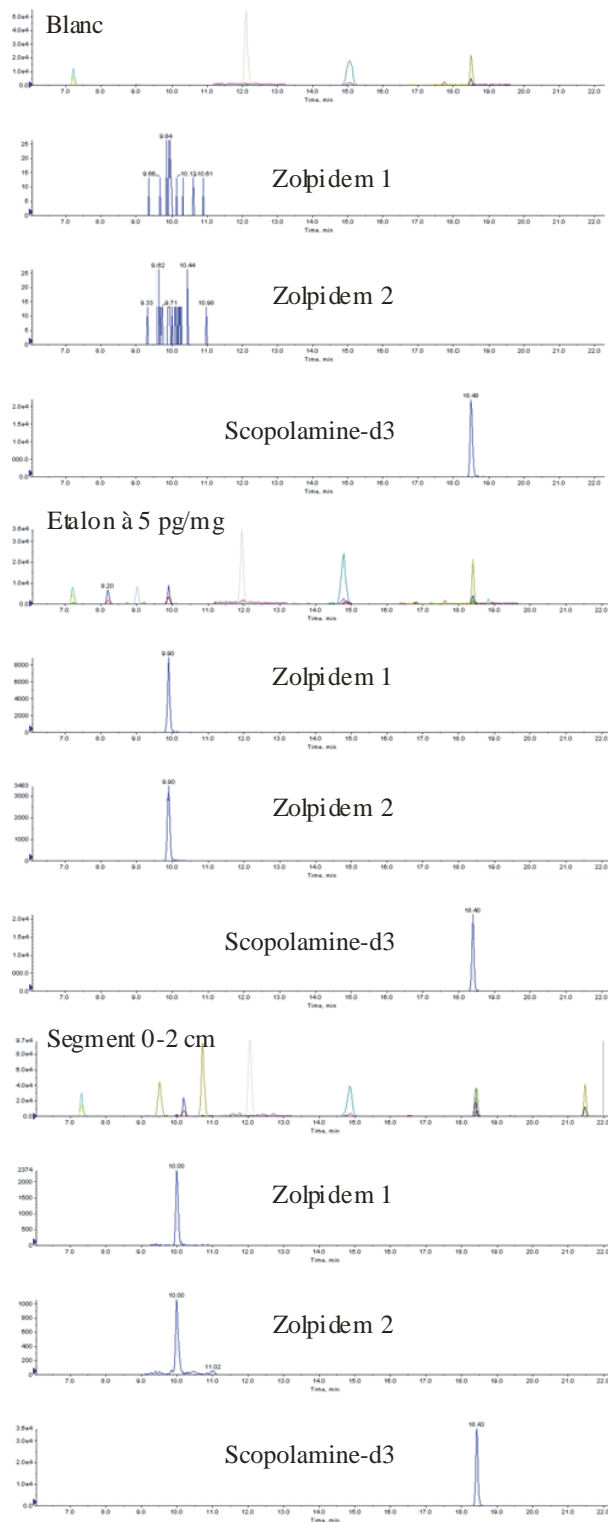
Une jeune femme de 25 ans, connaissant des problèmes conjugaux, porte plainte auprès de la Gendarmerie Nationale à l'encontre de son mari pour viol avec soumission chimique. Elle rapporte, malgré une amnésie partielle, qu'après un dîner en tête-à-tête à leur domicile, 3 semaines auparavant, elle s'est sentie somnolente et a été agressée sexuellement. Par ailleurs, elle déclare suivre un traitement quotidien par prazépam (LYSANXIA), à une posologie de 3 comprimés à 10 mg par jour. À cause du délai important entre les faits et la prise en charge, le sang et l'urine n'étaient plus d'aucune utilité : le laboratoire a été requis pour analyser une mèche de cheveux de la victime, prélevée un mois après les faits allégués.

Après avoir été décontaminée, la mèche a été divisée en 4 segments de 2 cm à partir du cuir chevelu et ces segments ont été analysés selon la méthode « psychotropes » décrite précédemment. Le prazépam ainsi que son métabolite, le nordazépam, ont été détectés dans tous les segments, à de fortes concentrations, confirmant le traitement chronique (**Tableau 7**). Mais une faible concentration de zolpidem a également été détectée dans le segment correspondant à la période des faits (**Tableau 7** et **Figure 16**).

**Tableau 7** : Concentrations (en pg/mg) des psychotropes détectés dans le prélèvement capillaire de la victime.

Segments capillaires	zolpidem	prazépam	nordazépam
- du cuir chevelu à 2 cm	0,9 pg/mg	416 pg/mg	229 pg/mg
- de 2 à 4 cm	non détecté	763 pg/mg	48,9 pg/mg
- de 4 à 6 cm	non détecté	> 1000 pg/mg	32,1 pg/mg
- de 6 cm à la ponte (≈ 8 cm)	non détecté	> 1000 pg/mg	44,6 pg/mg





**Figure 16 :** Chromatogrammes d'un échantillon vierge, d'un étalon concentré à 5 pg/mg et d'un segment de cheveux provenant de la victime (concentration en zolpidem = 0,9 pg/mg).

Cette faible concentration (0,9 pg/mg) est en faveur d'une exposition unique au zolpidem [68]. Confronté à ce résultat, le mari de la victime a reconnu l'agression précédée de l'administration à sa femme de zolpidem, provenant de son traitement personnel.

### II.3.3.2. CAS N°2

Une femme âgée de 62 ans est retrouvée un matin, par sa belle-fille, somnolente et très confuse. La veille, elle était sortie dîner au restaurant avec une amie. Toutes les fenêtres du logement sont ouvertes. La victime se réveille entièrement nue, sans aucun souvenir de la nuit précédente. Elle est hospitalisée aux urgences pour somnolence et désorientation. Le clinicien qui la prend en charge prescrit une recherche de psychotropes. Du sang et de l'urine sont prélevés dans l'après-midi suivant les faits supposés.

De l'éthylglucuronide est retrouvé dans l'urine à une concentration de 1,9 mg/L, mais le sang et l'urine ne révèlent aucune trace d'éthanol. Ces résultats sont en faveur d'une consommation de boissons alcoolisées lors de la soirée de la veille. Du zolpidem et du lorazépam sont détectés dans les 2 matrices. Leur concentration sanguine est, respectivement, inférieure à 1 µg/L et 56 µg/L. Ces résultats sont compatibles avec une prise de ces médicaments lors de la soirée précédente ou dans la nuit. En effet, le zolpidem ayant une demi-vie de 2 à 3 heures, il est éliminé de l'organisme en seulement 10 à 21 heures.

Afin d'établir si ces médicaments font partie d'un traitement régulier de la patiente, un prélèvement capillaire est effectué 19 jours après les faits. Son analyse révèle la présence de nordazépam dans 2 segments sur 3 (**Tableau 8**). Les concentrations retrouvées sont en faveur de quelques prises répétées de nordazépam au cours des mois ayant précédé les faits. Par contre, la très faible concentration de zolpidem et de lorazépam dans le segment correspondant aux faits est cohérente avec l'hypothèse d'une administration unique de ces 2 médicaments la veille de l'hospitalisation.

**Tableau 8** : Concentrations (en pg/mg) des psychotropes détectés dans le prélèvement capillaire de la victime.

<b>Segments capillaires</b>	<b>Zolpidem</b>	<b>lorazépam</b>	<b>Nordazépam</b>
- du cuir chevelu à 1,5 cm	0,5 pg/mg	0,5 pg/mg	non détecté
- de 1,5 à 3 cm	non détecté	non détecté	3,3 pg/mg
- de 3 à la pointe	non détecté	non détecté	7,7 pg/mg

Ce dernier cas illustre parfaitement la complémentarité des différentes matrices pour la documentation d'un cas de soumission chimique puisque le dosage sanguin des psychotropes a permis de cibler la période d'administration, tandis que les cheveux ont démontré qu'il s'agissait d'une prise unique et non d'un traitement chronique de la victime.

## CONCLUSION

---

La soumission chimique est un problème de santé publique encore trop méconnu. Pourtant, l'information du grand public et des professionnels de santé est primordiale pour l'amélioration de la prise en charge des victimes. L'objectif global de cette thèse était de contribuer à cette amélioration sur le plan de la toxicologie analytique.

Devant la diversité des molécules utilisées dans un tel contexte, le premier but de ce travail était d'établir un document aidant à l'élaboration d'une stratégie analytique. Un premier schéma a été réalisé. Il permet d'orienter le choix des molécules à rechercher en priorité selon les signes cliniques observés par le clinicien ou rapportés par la victime ou son entourage. Ensuite, un tableau permet d'apprécier visuellement les fenêtres de détection des principales substances ou familles utilisées en soumission chimique, dans le sang, l'urine et les cheveux. Il permet donc de rapidement décider des analyses (quelle(s) molécule(s) ? quelle(s) matrice(s) ?) intéressantes à réaliser en fonction du délai écoulé entre les faits (supposés ou avérés) et la réalisation des prélèvements. Ces deux outils sont complémentaires pour l'élaboration d'une stratégie analytique optimale.

Ensuite, deux méthodes ont été développées en CL-SM/SM, spécifiquement adaptées au contexte de soumission chimique, dans les prélèvements capillaires dans un premier temps, puis secondairement dans les liquides biologiques conventionnels. Elles permettent de rechercher et de quantifier en une seule analyse les principales substances utilisées en soumission chimique et leur(s) métabolite(s) : soit 35 molécules dans les cheveux, et 52 dans le sang et l'urine. De nombreux tests ont été réalisés afin d'optimiser chaque étape et aboutir à une procédure d'extraction et de détection satisfaisante pour l'ensemble des composés. Les résultats des expérimentations ont démontré qu'il était préférable de ne pas sélectionner une même extraction à partir des différentes matrices ; par conséquent, il s'agit d'une extraction liquide-liquide pour les cheveux, et d'une SPE pour le sang et l'urine.

Enfin, le dernier objectif de cette thèse a également été atteint puisque ces méthodes ont montré des résultats satisfaisants avec des LDD et des LDQ suffisamment faibles : de 0,5 à 10 pg/mg de cheveux et de 0,05 à 5 µg/L de sang. Ces limites sont donc conformes à l'objectif fixé et la comparaison avec celles publiées dans la littérature est favorable. La méthode « psychotropes »

dans les cheveux, déjà utilisée en routine depuis plusieurs mois, démontre son utilité à chaque analyse. En revanche, la recherche des psychotropes dans le sang et l'urine doit être complètement validée avant d'être appliquée à des cas réels. Les résultats de la première journée de validation réalisée dans le sang sont très encourageants.

Malgré l'apport indéniable de ces 2 nouvelles méthodes, l'interprétation des résultats n'est facilitée que si les 3 matrices (sang, urine, cheveux) ont été prélevées, et donc analysées. Dans le cas contraire, elle demeure souvent délicate. Pourtant, il est important de documenter au mieux un cas de soumission chimique supposée car la toxicologie est un élément de preuve du délit ou du crime et participe à la manifestation de la vérité. Même si la soumission chimique n'est pas directement une circonstance aggravante, elle témoigne sans contestation que le délit ou le crime était prémédité.

Malheureusement, les agresseurs possèdent beaucoup d'imagination et découvrent sans cesse de nouveaux moyens pour arriver à leurs fins. Les toxicologues doivent donc rester vigilants, adapter leurs techniques en incluant de nouvelles molécules à leurs recherches, communiquer pour faire évoluer les données épidémiologiques et contribuer à l'information du public et des professionnels de Santé.

## BIBLIOGRAPHIE

---

- [1] AFSSAPS. *Enquête Nationale sur la Soumission Chimique - Résultats de l'enquête 2003-2005*. [s.l.] : [s.n.], 2005.
- [2] KINTZ P. *Traité de toxicologie médico-judiciaire*. 2ème éd.[s.l.] : MASSON, 2012. 400 p.ISBN : 9782294715617.
- [3] SFTA. *Consensus - Soumission chimique* : prise en charge toxicologique. novembre 2003.
- [4] QUESTEL F., LAGIER G., FOMPEYDIE D., DJEZZAR S., DALLY S., ELKHARRAT D., DIAMANT-BERGER O. « Usage criminel de produits psychoactifs : analyse d'une série parisienne ». *Annales de Toxicologie Analytique*, 2002, Vol. 14, n°4, p. 371-380.
- [5] WELLS D. « Drug administration and sexual assault: sex in a glass ». *Science & Justice*, 2001. Vol. 41, n°3, p. 197-199.
- [6] DORANDEU A. H., PAGÈS C. A., SORDINO M.-C., PÉPIN G., BACCINO E., KINTZ P. « A case in south-eastern France: A review of drug facilitated sexual assault in European and English-speaking countries ». *Journal of Clinical Forensic Medicine*, 2006, Vol. 13, n°5, p. 253-261.
- [7] DHOS, DGS. *Circulaire DHOS/DGS n°2002/626 du 24 décembre 2002*, 2003.
- [8] AFSSAPS. *Enquête Nationale sur la Soumission Chimique - Résultats de l'enquête 2005-2006*. [s.l.] : [s.n.], 2007.
- [9] AFSSAPS. *Enquête Nationale sur la Soumission Chimique - Résultats de l'enquête 2007*. [s.l.] : [s.n.], 2008.
- [10] AFSSAPS. *Enquête Nationale sur la Soumission Chimique - Résultats de l'enquête 2008*. [s.l.] : [s.n.], 2010.
- [11] AFSSAPS. *Enquête Nationale sur la Soumission Chimique - Résultats de l'enquête 2009*. [s.l.] : [s.n.], 2011.
- [12] HALL J. A., MOORE C. B. T. « Drug facilitated sexual assault – A review ». *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 2008, Vol. 15, n°5, p. 291-297.
- [13] GAULIER J., FONTEAU F., JOUANEL E., LACHÂTRE G. « Les substances de la soumission chimique : aspects pharmacologiques et analytiques ». *Ann Biol Clin*. 2004, Vol. 62, n°5, p. 529-38.
- [14] QUESTEL F., SEC I., SICOT R., POURRIAT J.-L. « Soumission chimique : administration de psychotropes à l'insu d'une victime à des fins d'agression: Étude prospective de 52 cas au sein d'une unité médico-judiciaire ». *La Presse Médicale*, 2009, Vol. 38, n°7-8, p. 1049-1055.
- [15] MICHEL L., LANG J.-P. « Benzodiazépines et passage à l'acte criminel ». *L'Encéphale*, 2003, Vol. 29, n°1, p. 469-485.

- [16] SAÍAS T., GALLARDA T. « Réactions d'agressivité sous benzodiazépines : une revue de la littérature ». *L'Encéphale*, 2008, Vol. 34, n°4, p. 330-336.
- [17] AYADI N., NEIFAR S., MAALEJ M. « L'effet amnésiant et délictuel des benzodiazépines : à propos d'un cas sous lorazépam ». *Thérapie*. 1998. n°58, p. 595-610.
- [18] GOULLÉ J.-P., ANGER J.-P. « Effet amnésiant des hypnotiques médicamenteux. Revue de la littérature. Cas personnels ». *Annales de Toxicologie Analytique*. 2002. Vol. 14, n°4, p. 381-389.
- [19] VERSTRAETE A. G. « Fenêtres de détection des xénobiotiques dans le sang, les urines, la salive et les cheveux ». *Annales de Toxicologie Analytique*. 2002. Vol. 14, n°4, p. 390-394.
- [20] RAUL J.-S., KINTZ P., LUDES B. « La soumission chimique : prise en charge dans un service de médecine légale ». *Annales de Toxicologie Analytique*. 2002. Vol. 14, n°4, p. 365-370.
- [21] AFSSAPS. *Le rôle des toxicologues analystes*. [s.l.] : [s.n.], 2005. (Procédures dans le cadre du dispositif national de suivi des cas de soumission chimique).
- [22] SOCIETY OF FORENSIC TOXICOLOGISTS. *Recommended maximum detection limits for common DFSA drugs and metabolites in urine samples*. 2005.
- [23] SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE TOXICOLOGIE ANALYTIQUE. *Instructions. Contrôle externe de qualité Soumission chimique, niveaux I et II*. 2009.
- [24] PÉPIN G. « Aspects analytique, toxicologique, judiciaire de la soumission chimique : dix ans d'expérience ». *Annales Pharmaceutiques Françaises*. 2010. Vol. 68, n°2, p. 61-75.
- [25] KHARRAT A. *La recherche et le dosage des benzodiazépines dans les cheveux dans le cadre d'une soumission chimique*. Thèse d'exercice. [S. l.] : [s.n.], 2009. 85 p.
- [26] BUCELLI F., FRATINI A., BAVAZZANO P., COMODO N. « Quantification of drugs of abuse and some stimulants in hair samples by liquid chromatography–electrospray ionization ion trap mass spectrometry ». *Journal of Chromatography B*. 2009. Vol. 877, n°31, p. 3931-3936.
- [27] SCOTT K. S. « The use of hair as a toxicological tool in DFC casework ». *Sci. Justice*. 2009. Vol. 49, n°4, p. 250-253.
- [28] SHBAIR M. K. S., LHERMITTE M. « Drug-facilitated crimes: Definitions, prevalence, difficulties and recommendations. A review ». *Annales Pharmaceutiques Françaises*. 2010. Vol. 68, n°3, p. 136-147.
- [29] KINTZ P. « Soumission chimique : Prise en charge toxicologique ». *Annales de Toxicologie Analytique*. 2003. Vol. 15, n°4, p. 239-242.
- [30] PÉPIN G., CHEZE M., DUFFORT G., VAYSSETTE F. « De l'intérêt des cheveux et de la spectrométrie de masse tandem pour la soumission chimique : à propos de neuf cas ». *Annales de Toxicologie Analytique*. 2002. Vol. 14, n°4, p. 395-406.

- [31] CHÈZE M., DUFFORT G., DEVEAUX M., PÉPIN G. « Hair analysis by liquid chromatography–tandem mass spectrometry in toxicological investigation of drug-facilitated crimes: Report of 128 cases over the period June 2003–May 2004 in metropolitan Paris ». *Forensic Science International*. 2005. Vol. 153, n°1, p. 3-10.
- [32] CHÈZE M., VILLAIN M., PÉPIN G. « Determination of bromazepam, clonazepam and metabolites after a single intake in urine and hair by LC-MS/MS. Application to forensic cases of drug facilitated crimes ». *Forensic Sci. Int.* 2004. Vol. 145, n°2-3, p. 123-130.
- [33] VILLAIN M., VALLET E., CIRIMELE V., KINTZ P. « Mise en évidence d'une soumission chimique à la niaprazine chez des enfants par analyse des cheveux en CL-SM/SM ». *Annales de Toxicologie Analytique*. 2009. Vol. 20, n°2, p. 85-87.
- [34] VILLAIN M., CHÈZE M., TRACQUI A., LUDES B., KINTZ P. « Testing for zopiclone in hair application to drug-facilitated crimes ». *Forensic Sci. Int.* 2004. Vol. 145, n°2-3, p. 117-121.
- [35] KINTZ P., EVANS J., VILLAIN M., SALQUEBRE G., CIRIMELE V. « Hair analysis for diphenhydramine after surreptitious administration to a child ». *Forensic Sci. Int.* 2007. Vol. 173, n°2-3, p. 171-174.
- [36] KINTZ P., VILLAIN M., CHÈZE M., PÉPIN G. « Identification of alprazolam in hair in two cases of drug-facilitated incidents ». *Forensic Sci. Int.* 2005. Vol. 153, n°2-3, p. 222-226.
- [37] PUJOL M.-L., VILLAIN M., SALQUÈBRE G., VALLET E., CIRIMELE V., KINTZ P. « Scopolamine: un nouveau cas de soumission médicamenteuse sur des enfants ». *Annales de Toxicologie Analytique*. 2006. Vol. 18, n°3, p. 207-212.
- [38] GAILLARD Y., PÉPIN G. « Screening and identification of drugs in human hair by high-performance liquid chromatography-photodiode-array UV detection and gas chromatography-mass spectrometry after solid-phase extraction. A powerful tool in forensic medicine ». *J Chromatogr A*. 1997. Vol. 762, n°1-2, p. 251-267.
- [39] CHEZE M., DEVEAUX M., LENOAN A., PÉPIN G. « Clonazepam, bromazepam et Zolpidem dans les cheveux de victimes de soumission chimique: analyse quantitative par LC-MS/MS et relation dose-concentration ». *Annales de Toxicologie Analytique*. 2005. Vol. 17, n°4, p. 269-273.
- [40] VILLAIN M., CIRIMELE V., KINTZ P. « Soumission chimique. Recherche des benzodiazepines et hypnotiques dans les cheveux par LC-MS/MS ». *Annales de Toxicologie Analytique*. 2005. Vol. 17, n°1, p. 33-42.
- [41] GAULIER J.-M., SAUVAGE F.-L., PAUTHIER H., SAINT-MARCOUX F., MARQUET P., LACHÂTRE G. « Identification of acepromazine in hair: an illustration of the difficulties encountered in investigating drug-facilitated crimes ». *J. Forensic Sci.* 2008. Vol. 53, n°3, p. 755-759.
- [42] MUSSHOF F., DRIEVER F., LACHENMEIER K., LACHENMEIER D. W., BANGER M., MADEA B. « Results of hair analyses for drugs of abuse and comparison with self-reports and urine tests ». *Forensic Sci. Int.* 2006. Vol. 156, n°2-3, p. 118-123.



- [43] CIRIMELE V., KINTZ P., LUDES B. « Screening for forensically relevant benzodiazepines in human hair by gas chromatography-negative ion chemical ionization-mass spectrometry ». *J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl.* 1997. Vol. 700, n°1-2, p. 119-129.
- [44] KINTZ P., VILLAIN M., DUMESTRE-TOULET V., CIRIMELE V. « Utilité de la LC-MS/MS dans les agressions sexuelles sous l'emprise de molécules psychoactives. Etude d'un cas impliquant du Zolpidem ». *Annales de Toxicologie Analytique.* 2005. Vol. 17, n°4, p. 263-267.
- [45] MCCLEAN S., O'KANE E., HILLIS J., SMYTH W. F. « Determination of 1,4-benzodiazepines and their metabolites by capillary electrophoresis and high-performance liquid chromatography using ultraviolet and electrospray ionisation mass spectrometry ». *J Chromatogr A.* 1999. Vol. 838, n°1-2, p. 273-291.
- [46] HADIDI K. A., ALMASAD J. K., AL-NSOUR T., ABU-RAGHEIB S. « Determination of tramadol in hair using solid phase extraction and GC-MS ». *Forensic Sci. Int.* 2003. Vol. 135, n°2, p. 129-136.
- [47] MÜLLER, VOGT S., GOERKE R., KORDON A., WEINMANN W. « Identification of selected psychopharmaceuticals and their metabolites in hair by LC/ESI-CID/MS and LC/MS/MS. ». 2000. Vol. 113, n°1-3, p. 415-421.
- [48] IRVING R. C., DICKSON S. J. « The detection of sedatives in hair and nail samples using tandem LC-MS-MS ». *Forensic Sci. Int.* 2007. Vol. 166, n°1, p. 58-67.
- [49] GAULIER J., MAUBLANC J. « LSD in pubic hair in a fatality ». *Forensic Sci. Int.* 2012. Vol. 218, n°1-3, p. 25-27.
- [50] PETERS F. T., DRUMMER O. H., MUSSHOF F. « Validation of new methods ». *Forensic Sci. Int.* 2007. Vol. 165, n°2-3, p. 216-224.
- [51] MUSSHOF F., MADEA B. « New trends in hair analysis and scientific demands on validation and technical notes ». *Forensic Sci. Int.* 2007. Vol. 165, n°2-3, p. 204-215.
- [52] AGIUS R., KINTZ P. « Guidelines for European workplace drug and alcohol testing in hair ». *Drug Testing and Analysis.* 2010. Vol. 2, n°8, p. 367-376.
- [53] VILLAIN M., CONCHEIRO M., CIRIMELE V., KINTZ P. « Screening method for benzodiazepines and hypnotics in hair at pg/mg level by liquid chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry ». *Journal of Chromatography B.* 2005. Vol. 825, n°1, p. 72-78.
- [54] MORINI L., VIGNALI C., POLLA M., SPONTA A., GROPPA A. « Comparison of extraction procedures for benzodiazepines determination in hair by LC-MS/MS ». *Forensic Sci. Int.* 2012. Vol. 218, n°1-3, p. 25-27.
- [55] RUST K. Y., BAUMGARTNER M. R., MEGGIOLARO N., KRAEMER T. « Detection and validated quantification of 21 benzodiazepines and 3 « z-drugs » in human hair by LC-MS/MS ». *Forensic Sci. Int.* 2012. Vol. 215, n°1-3, p. 64-72.

- [56] SALOMONE A., GERACE E., DI CORCIA D., MARTRA G., PETRARULO M., VINCENTI M. « Hair analysis of drugs involved in drug-facilitated sexual assault and detection of zolpidem in a suspected case ». *Int. J. Legal Med.* 2012. Vol. 126, n°3, p. 451-459.
- [57] LENDOIRO E., QUINTELA Ó., DE CASTRO A., CRUZ A., LÓPEZ-RIVADULLA M., CONCHEIRO M. « Target screening and confirmation of 35 licit and illicit drugs and metabolites in hair by LC–MSMS ». *Forensic Sci. Int.* 2012. Vol. 217, n°1-3, p. 207-215.
- [58] PELANDER A., RISTIMAA J., RASANEN I., VUORI E., OJANPERÄ I. « Screening for basic drugs in hair of drug addicts by liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry ». *Ther Drug Monit.* 2008. Vol. 30, n°6, p. 717-724.
- [59] LIU H.-C., LIU R. H., LIN D.-L., HO H.-O. « Rapid screening and confirmation of drugs and toxic compounds in biological specimens using liquid chromatography/ion trap tandem mass spectrometry and automated library search ». *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 2009. Vol. 24, n°1, p. 75-84.
- [60] HEGSTAD S., KHIABANI H. Z., KRISTOFFERSEN L., KUNØE N., LOBMAIER P. P., CHRISTOPHERSEN A. S. « Drug screening of hair by liquid chromatography-tandem mass spectrometry ». *J Anal Toxicol.* 2008. Vol. 32, n°5, p. 364-372.
- [61] KRONSTRAND R., NYSTRÖM I., STRANDBERG J., DRUID H. « Screening for drugs of abuse in hair with ion spray LC-MS-MS ». *Forensic Sci. Int.* 2004. Vol. 145, n°2-3, p. 183-190.
- [62] MILLER E. I., WYLIE F. M., OLIVER J. S. « Simultaneous detection and quantification of amphetamines, diazepam and its metabolites, cocaine and its metabolites, and opiates in hair by LC-ESI-MS-MS using a single extraction method ». *J Anal Toxicol.* septembre 2008. Vol. 32, n°7, p. 457-469.
- [63] NIELSEN M. K. K., JOHANSEN S. S., DALSGAARD P. W., LINNET K. « Simultaneous screening and quantification of 52 common pharmaceuticals and drugs of abuse in hair using UPLC–TOF-MS ». *Forensic Sci. Int.* 2010. Vol. 196, n°1–3, p. 85-92.
- [64] SMINK B. E., BRANDSMA J. E., DIJKHUIZEN A., LUSTHOF K. J., GIER J. J. DE, EGBERTS A. C. G., UGES D. R. A. « Quantitative analysis of 33 benzodiazepines, metabolites and benzodiazepine-like substances in whole blood by liquid chromatography–(tandem) mass spectrometry ». *Journal of Chromatography B.* 2004. Vol. 811, n°1, p. 13-20.
- [65] ISHIDA T., KUDO K., HAYASHIDA M., IKEDA N. « Rapid and quantitative screening method for 43 benzodiazepines and their metabolites, zolpidem and zopiclone in human plasma by liquid chromatography/mass spectrometry with a small particle column ». *Journal of Chromatography B.* 2009. Vol. 877, n°25, p. 2652-2657.
- [66] ADAMOWICZ P., KAŁA M. « Simultaneous screening for and determination of 128 date-rape drugs in urine by gas chromatography–electron ionization-mass spectrometry ». *Forensic Sci. Int.* 2010. Vol. 198, n°1–3, p. 39-45.
- [67] SALOMONE A., GERACE E., BRIZIO P., GENNARO M. C., VINCENTI M. « A fast liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for determining benzodiazepines and

analogues in urine. Validation and application to real cases of forensic interest ». *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2011. Vol. 56, n°3, p. 582-591.

- [68] KINTZ P., VILLAIN M., DUMESTRE-TOULET V., LUDES B. « Drug-facilitated sexual assault and analytical toxicology: the role of LC-MS/MS A case involving zolpidem ». *J Clin Forensic Med*. 2005. Vol. 12, n°1, p. 36-41.

## INDEX DES FIGURES ET TABLEAUX

---

### LISTE DES FIGURES :

<b>Figure 1 :</b>	Prélèvements sanguins et urinaires, réalisés en double dans un contexte de soumission chimique.	22
<b>Figure 2 :</b>	Mèche de cheveux isolée et orientée à l'aide d'une cordelette, indiquant l'extrémité correspondante au cuir chevelu.	23
<b>Figure 3 :</b>	Substances ou familles de substances à rechercher en priorité dans les cas de soumission chimique en fonction de la symptomatologie.	27
<b>Figure 4 :</b>	Différents modes d'incorporation des xénobiotiques dans un cheveu [24].	29
<b>Figure 5 :</b>	Analyse segmentaire d'un échantillon capillaire (S = semaine) [24].	30
<b>Figure 6 :</b>	Photos d'un broyeur à boulets et de l'agitateur oscillant.	42
<b>Figure 7 :</b>	A gauche, cheveux coupés finement et à droite, cheveux broyés.	43
<b>Figure 8 :</b>	Description du premier gradient de la phase mobile testé pour la méthode « psychotropes » dans les cheveux.	48
<b>Figure 9 :</b>	Description du gradient retenu pour la séparation des molécules de la méthode « psychotropes » dans les cheveux.	49
<b>Figure 10 :</b>	Chromatogrammes des 35 molécules recherchées sur une colonne Atlantis T3 2,1 x 100 mm et particules de 3 µm, en haut, avec le gradient décrit à la figure 8 et en bas, avec le gradient décrit à la figure 9.	49
<b>Figure 11 :</b>	Photo du montage CL-3200 QTRAP du service de pharmacologie, toxicologie et pharmacovigilance du CHU de Limoges.	51
<b>Figure 12 :</b>	Optimisation de paramètres de la source par la technique FIA pour toutes les transitions de la méthode « psychotropes ».	52
<b>Figure 13 :</b>	Comparaison du test de suppression ionique réalisé à partir du même échantillon sanguin après le protocole d'extraction sur cartouche HLB (en haut) et sur cartouche MCX (en bas).	60
<b>Figure 14 :</b>	Description du gradient de la méthode « psychotropes » dans le sang et l'urine et exemple d'un chromatogramme obtenu pour un étalon à la concentration de 500 µg/L.	64
<b>Figure 15 :</b>	Métabolisme commun de certaines benzodiazépines [2].	67

**Figure 16 :** Chromatogrammes d'un échantillon vierge, d'un étalon concentré à 5 pg/mg et d'un segment de cheveux provenant de la victime (concentration en zolpidem = 0,9 pg/mg). 73

LISTE DES TABLEAUX :

<b>Tableau 1 :</b> Liste non exhaustive des principales substances ou classes médicamenteuses susceptibles d'être utilisées à des fins de soumission chimique.	20
<b>Tableau 2 :</b> Fenêtres de détection en heures de benzodiazépines ou molécules apparentées selon plusieurs techniques.	34
<b>Tableau 3 :</b> Fenêtres de détection de substances utilisées en soumission chimique, dans le sang, l'urine et les cheveux ; exemple de techniques de screening et de techniques de méthodes spécifiques permettant la mise en évidence de ces molécules.	35
<b>Tableau 4 :</b> Caractéristiques comparées du broyage et de la section fine.	
<b>Tableau 5 :</b> Protocoles d'incubation rencontrés dans la littérature.	
<b>Tableau 6 :</b> Liste des 52 psychotropes et métabolites recherchés par la méthode « psychotropes » dans les échantillons sanguins et urinaires.	58
<b>Tableau 7 :</b> Concentrations (en pg/mg) des psychotropes détectés dans le prélèvement capillaire de la victime.	72
<b>Tableau 8 :</b> Concentrations (en pg/mg) des psychotropes détectés dans le prélèvement capillaire de la victime.	75

## ANNEXES

---

<b>Annexe 1 :</b>	Fiche de liaison entre les cliniciens et les toxicologues en vigueur au sein du CHU de Limoges.	87
<b>Annexe 2 :</b>	Liste des molécules pouvant être impliquées dans un contexte de soumission chimique selon la SOFT.	88
<b>Annexe 3 :</b>	Liste des molécules pouvant être retrouvées dans les contrôles de qualité Soumission chimique de la SFTA.	90
<b>Annexe 4 :</b>	Récapitulatif des molécules identifiées lors des 4 enquêtes menées par l'AFSSaPS.	91
<b>Annexe 5 :</b>	Liste des substances identifiées par le service de pharmacologie, toxicologie et pharmacovigilance du CHU de Limoges.	92
<b>Annexe 6 :</b>	Liste des molécules devant idéalement être recherchées dans la méthode « psychotropes » et leurs critères de choix.	93
<b>Annexe 7 :</b>	Modes opératoires des différentes incubations et extractions testées lors de la mise au point de la méthode « psychotropes ».	94
<b>Annexe 8 :</b>	Transitions MRM et paramètres de masse [Declustering Potential (DP), Entrance Potential (EP), Cell Entrance Potential (CEP), Collision Energy (CE) and Cell Exit Potential (CXP)] pour les analytes et les EI.	95
<b>Annexe 9 :</b>	Temps de rétention relatif (Trr) et intensité relative des transitions (I.R.T.) pour les 35 molécules, avec leur étalon interne (EI).	97
<b>Annexe 10 :</b>	Limite de détection (LDD) et de quantification (LDQ), variabilité intra- et inter-jours à 3 niveaux de concentration pour les 35 psychotropes.	98
<b>Annexe 11 :</b>	Comparaison des LDD et LDQ de la méthode « psychotropes » avec celles de méthodes publiées précédemment.	99
<b>Annexe 12 :</b>	Transitions MRM et paramètres de masse [Declustering Potential (DP), Entrance Potential (EP), Cell Entrance Potential (CEP), Collision Energy (CE) and Cell Exit Potential (CXP)] pour les analytes et les EI.	100
<b>Annexe 13 :</b>	Temps de rétention relatif (Trr) et intensité relative des transitions (I.R.T.) pour les 52 molécules, avec leur étalon interne (EI).	103
<b>Annexe 14 :</b>	LDD et LDQ sanguines observées lors de la première journée de validation.	104
<b>Annexe 15 :</b>	Formulaire de déclaration d'un cas de soumission chimique à un CEIP.	105



## Annexe 2 : Liste des molécules pouvant être impliquées dans un contexte de soumission chimique selon la SOFT.

Society of Forensic Toxicologists (SOFT)  
Drug-Facilitated Sexual Assault Committee

### Recommended Maximum Detection Limits for Common DFSA Drugs and Metabolites in Urine Samples

Target Analytes	Parent Drug	Trade Names / "Street Names"	Recommended Maximum Detection Limit
<b>Ethanol:</b>			
Ethanol	Ethanol	Alcohol, Ethyl Alcohol, "Booze"	10 mg/dL
<b>GHB and Analogs:</b>			
Gamma-Hydroxybutyrate	Gamma-Hydroxybutyrate	Xyrem, "GHB", Easy Lay, "G", "Georgia Home Boy", "Grievous Bodily Harm", "Liquid Ecstasy", "Liquid E", "Liquid G", "Liquid X", "Salty Water", "Scoop", "Soap"	10 µg/mL
	1,4-Butanediol	"1,4-BD", "Enliven", "Inner G", "Revitalize Plus", "Serenity", "SomatoPro", "Sucol B", "Thunder Nectar", "Weight Belt Cleaner", "White Magic"	
	Gamma-Butyrolactone	"GBL", "Blue Nitro", "G3", "Gamma G", "G.H. Revitalizer", "Insom-X", "Invigorate", "Remforce", "Renewtrient", "Verve"	
<b>Benzodiazepines:</b>			
Many benzodiazepines are biotransformed into glucuronide-conjugated metabolites. To improve detection limits and times, it is recommended that laboratories use instrumental techniques that will detect the glucuronide metabolites or hydrolyze urine specimens to free the conjugate before extraction.			
Alprazolam	Alprazolam	Xanax, Niravam	10 ng/mL
α-hydroxy-alprazolam	Alprazolam	Xanax, Niravam	10 ng/mL
Chlordiazepoxide	Chlordiazepoxide	Librium, Libritabs	10 ng/mL
Clonazepam	Clonazepam	Clonapin, Klonopin, Rivotril	5 ng/mL
7-aminoclonazepam	Clonazepam	Clonapin, Klonopin, Rivotril	5 ng/mL
Diazepam	Diazepam	Valium, Diastat, Dizac,	10 ng/mL
Flunitrazepam	Flunitrazepam	Rohypnol	5 ng/mL
7-aminoflunitrazepam	Flunitrazepam	Rohypnol	5 ng/mL
Lorazepam	Lorazepam	Ativan	10 ng/mL
Nordiazepam	Diazepam, Chlordiazepoxide	Ativan	10 ng/mL
Oxazepam	Oxazepam, Diazepam, Chlordiazepoxide, Nordiazepam, Temazepam	Serax	10 ng/mL
Temazepam	Temazepam, Diazepam	Normison, Restoril	10 ng/mL
Triazolam	Triazolam	Halcion	5 ng/mL
4-hydroxy-triazolam	Triazolam	Halcion	5 ng/mL

Target Analytes	Parent Drug	Trade Names / "Street Names"	Recommended Maximum Detection Limit
<b>Marijuana:</b>			
11-carboxy-THC	Tetrahydrocannabinol (THC)	Marinol, Dronabinol, "Marijuana", <i>Cannabis sativa</i>	10 ng/mL
<b>Barbiturates:</b>			
Amobarbital	Amobarbital	Amytal	25 ng/mL
Butalbital	Butalbital	Esgic, Fioricet, Fiorpap, Fiorinal	
Pentobarbital	Pentobarbital, Thiopental	Nembutal	
Phenobarbital	Phenobarbital, Primidone	Nembutal	20 ng/mL
Secobarbital	Secobarbital	Seconal, Tuinal	
<b>Over-the-Counter Medications:</b>			
Brompheniramine	Brompheniramine	Alatapp, Bromaline, Bromanate, Bromfed, Bromphen, Dimetane, Dimetapp, Myphetane, Polytime, Puretane,	10 ng/mL
Desmethylbrompheniramine	Brompheniramine	Alatapp, Myphetane, Polytime, Puretane,	
Chlorpheniramine	Chlorpheniramine	Aller Chlor, Chlor-Trimeton, Coricidin, Deconamine, Efidac, Kronofed, Teldrin	
Desmethylchlorpheniramine	Chlorpheniramine	Aller Chlor, Chlor-Trimeton, Coricidin, Deconamine, Efidac, Kronofed, Teldrin	
Dextromethorphan	Dextromethorphan	Benylin, Romilar, Delsym	
Diphenhydramine	Diphenhydramine	Banophen, Belix, Benadryl, Dermarest, Excedrin PM, Hydramine, Sleepinal, Sleep-Eze 3, Tylenol PM, Unisom Sleep Gels	
Doxylamine	Doxylamine	Unisom, Bendectin	10 ng/mL
Desmethyldoxylamine	Doxylamine	Unisom, Bendectin	
<b>Anti-Depressants:</b>			
Amitriptyline	Amitriptyline	Elavil, Endep	10 ng/mL
Nortriptyline	Amitriptyline	Elavil, Endep	
Citalopram	Citalopram	Celexa, Cipramil	
Desmethylcitalopram	Citalopram	Celexa, Cipramil	
Desipramine	Desipramine, Imipramine	Norpramin, Pertofrane	
Doxepin	Desipramine, Imipramine	Norpramin, Pertofrane	
Desmethyldoxepin	Doxepin	Sinequan, Adapin, Zonalon, Prudoxin,	
Fluoxetine	Fluoxetine	Prozac, Sarafem	
Norfluoxetine	Fluoxetine	Prozac, Sarafem	
Imipramine	Imipramine	Tofranil	
Paroxetine	Imipramine	Asimia, Paxil	




**Recommended Maximum Detection Limits for Common DFSA Drugs and Metabolites in Urine Samples**

Target Analytes	Parent Drug	Trade Names / "Street Names"	Recommended Maximum Detection Limit
Sertraline Norsertraline	Sertraline	Zoloft	
<b>Narcotic and Non-Narcotic Analgesics:</b>			
Codeine	Codeine		10 ng/mL
Fentanyl	Fentanyl	Actiq, Duragesic, Sublimaze, Innovar	
Hydrocodone	Hydrocodone	Anexsia, Hycodan, Lorcet, Lortab, Norco, Panacet, Vicodin, Zydone	
Hydromorphone	Hydromorphone	Dilaudid, Palladone	
Meperidine Normeperidine	Meperidine	Demerol, Mepergan	
Methadone EDDP	Methadone	Dolophine	
Morphine	Morphine	Avinza, Astramorph, Duramorph, Kadian, MSIR, MS Contin, Oramorph, Roxanol	
Oxycodone	Oxycodone	Oxycontin, Oxyir, Roxicodone, Percodan, Percocet, Percolone, Roxicet, Tylox	
Propoxyphene Norpropoxyphene	Propoxyphene	Darvocet, Darvon, Wygesic	
<b>Miscellaneous Drugs:</b>			
Carisoprodol	Carisoprodol	Soma	50 ng/mL
Clonidine	Clonidine	Catapres, Combipres, Clorpres, Duraclon	1 ng/mL
Cyclobenzaprine	Cyclobenzaprine	Flexeril	10ng/mL
Ketamine	Ketamine	Ketalar	1 ng/mL
Norketamine			
Methylenedioxyamphetamine	Methylenedioxyamphetamine		10 ng/mL
Methylenedioxymethamphetamine	Methylenedioxymethamphetamine		
Meprobamate	Meprobamate, Carisoprodol	Equagesic, Equanil, Micrainin, Miltown	50 ng/mL
Phencyclidine	Phencyclidine		10 ng/mL
Scopolamine	Scopolamine	Isopto Hyoscine, Scopace, Transderm Scop	
Valproic Acid	Valproic Acid	Depacon, Depakene, Valproate	50 ng/mL
Zolpidem	Zolpidem	Ambien	10 ng/mL

			Detection Limit
<b>Stimulants:</b>			
While the below drugs do not possess the pharmacological effects typically associated with DFSA drugs, due to their popularity, it is recommended that screens for these drugs and metabolites be conducted at the detection limits listed or better.			
Amphetamine	Amphetamine, Methamphetamine	Adderall	50 ng/mL
Cocaine	Cocaine		50 ng/mL
Benzoylcegonine			
Methamphetamine	Methamphetamine	Desoxyn	50 ng/mL

**Annexe 3 : Liste des molécules pouvant être retrouvées dans les contrôles de qualité Soumission chimique de la SFTA.**



**Instructions**

Contrôle externe de qualité – CQ4 2009  
Soumission chimique niveaux I et II

en collaboration avec **MEDICHEM**  
DIAGNOSTICA PHARMACOKINETICUM

## Société Française de Toxicologie Analytique SFTA

**A. Contrôle externe de qualité CQ4 : soumission chimique**

- Les échantillons ont été préparés et envoyés par la société MEDICHEM®.
- Lisez attentivement les instructions avant de commencer.
- Vérifiez que vous avez bien reçu 1 flacon de sang total lyophilisé et un flacon d'urine lyophilisée, l'échantillon de cheveux si vous êtes inscrit au niveau II, ainsi que la feuille d'instructions.
- En cas de problème concernant les échantillons ou de livraison, adressez-vous directement au fabricant, en français, par fax, au +49 (0) 7157 5304 11.

**B. Contact**

<p><b>RESPONSABLE DE LA GESTION</b> <b>CONTROLE DE QUALITE DE LA SFTA :</b> <b>Luc HUMBERT</b> CHRU de Lille Laboratoire de Toxicologie et de génopathies Bd du Prof. J. Leclercq F – 59037 LILLE Cedex, FRANCE Téléphone : +33 (3) 20 44 49 50 Fax : +33 (3) 20 44 47 29</p> <p><b>RESPONSABLE DE PRODUCTION ET DE</b> <b>CONTROLE DE QUALITE DE MEDICHEM :</b> <b>Natacha Valois</b> Téléphone : +49 (0) 7157 5304 131 Fax : +49 (0) 7157 5304 11</p>	<p><b>SFTA</b> Société Française de Toxicologie Analytique Laboratoire de Pharmacocinétique et de toxicologie Centre hospitalier Universitaire BP 24 F - 76083 Le Havre Cedex, FRANCE Téléphone : +33 (2) 32 73 32 23 Fax : +33 (2) 32 73 32 38</p> <p><b>Medichem Diagnostica GmbH &amp; Co. KG</b> Kringstrasse 3-5 D - 71144 Steinenbronn, ALLEMAGNE</p>
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

**C. Echantillons**

- 1. Contenu**
  - 1.1. Les échantillons sont constitués d'un échantillon de sang total lyophilisé, d'un échantillon d'urine lyophilisée et, pour le niveau II d'un échantillon de cheveux. Tous ces échantillons sont d'origine humaine. Ils sont réservés à l'usage *in vitro* et doivent être manipulés avec les mêmes précautions que celles prises pour les échantillons de patients.
  - 1.2. Selon les recommandations de la commission Soumission Chimique, les échantillons contiennent différentes molécules appartenant à la liste suivante:  
Alimémazine, 7-amino clonazépam, 7-amino flunitrazépam, alprazolam, bromazépam, clobazam, cyamémazine, diazépam, diphenhydramine, doxylamine, GHB, halopéridol, hydroxyzine, kétamine, lévomépromazine, lorazépam, lormétazépam, midazolam, niaprazine, nordiazépam, oxazépam, scopolamine, témazépam, triazolam, tetrazépam, zolpidem, zopiclone.
  - 1.3. Attention, certaines molécules peuvent être présentes à de faibles concentrations.
  - 1.4. Chaque matrice (sang, urine, cheveux) est dotée de molécules différentes. Il n'y a donc aucun lien entre ces différentes matrices.
  - 1.5. Chaque flacon comporte une étiquette portant un numéro d'identification de lot. La stabilité et l'homogénéité des échantillons ont été évaluées par la société MEDICHEM®.

#### **Annexe 4** : Récapitulatif des molécules identifiées lors des 4 enquêtes menées par l'AFSSaPS.

- Benzodiazépines :
  - Alprazolam
  - Bromazépam
  - Clobazam
  - Clonazépam
  - Diazépam
  - Flunitrazépam
  - Loprazolam
  - Lorazépam
  - Lormétazépam
  - Midazolam
  - Nordazépam
  - Oxazépam
  - Prazépam
  - Témazépam
  - Tétrazépam
  - Triazolam
  - Zolpidem
  - Zopiclone
- Antihistaminiques H1 et sédatifs :
  - Doxylamine
  - Cyamémazine
  - Hydroxyzine
- Analgésiques :
  - Morphine
  - Pholcodine
  - Propoxyphène
  - Tramadol
- Antidépresseurs
  - Citalopram
  - Miansérine
  - Clomipramine
  - Imipramine
  - Nortriptyline
- Anesthésiques
  - GHB
  - Kétamine
- Divers
  - Gliclazide
  - Quinidine
  - Chloroquine
- Substances non médicamenteuses
  - MDMA
  - LSD
  - Cannabis
  - Cocaïne
  - Ethanol
  - Scopolamine



**Annexe 5** : Liste des substances identifiées par le Service de Pharmacologie, Toxicologie et Pharmacovigilance du CHU de Limoges.

1	7- aminoclonazépam	48	Mirtazapine
2	Alimémazine	49	Desméthylmirtazapine
3	Alprazolam	50	Lamotrigine
4	7-aminoflunitrazépam	51	Paroxétine
5	Atropine	52	Amphétamine
6	Bromazépam	53	MDMA
7	Chlordiazépoxyde	54	Cétirizine
8	Clomipramine	55	Citalopram
9	Clonazépam	56	Acépromazine
10	Desméthyldiazépam	57	Nicéthamide
11	Desméthylflunitrazépam	58	Méprobamate
12	Dextropropoxyphène	59	Oxoméazine
13	Ethanol	60	Témazépam
14	Flunitrazépam	61	Clobazam
15	GHB	62	Norclobazam
16	Hydroxymidazolam	63	Alpha-hydroxyalprazolam
17	Lévomépromazine	64	Pipampérone
18	Lormétazépam	65	Méthylesterecgonine
19	Midazolam	66	Anhydroecgonine méthylester
20	Milnacipram	67	Norfenfluramine
21	Nordazépam	68	Hydroxyzine
22	Noréphédrine	69	Desméthylcitalopram
23	Norpropoxyphène	70	Acide valproïque
24	Oxazépam	71	Lithium
25	Paracétamol	72	Triazolam
26	Pseudoéphédrine	73	11-OH THC
27	Risperidone	74	Déséthylétifoxine
28	THC-COOH	75	Méthadone
29	Zolpidem	76	EDDP
30	Loprazolam	77	Hydroxyprazépam glucuronide
31	Zopiclone	78	Scopolamine
32	Miansérine	79	Tétrazépam
33	Lorazépam	80	Halopéridol
34	THC	81	Halopéridol réduit
35	Morphine	82	Ethylglucuronide
36	Venlafaxine	83	Diazépam
37	3-hydroxy-bromazépam	84	Niaprazine
38	Méthylmorphine	85	Chloroforme
39	Pholcodine	86	Tiapride
40	Cyamémazine	87	Clotiazépam
41	Desméthylsertraline	88	Amitriptyline
42	Buprénorphine	89	Ethylglucuronide
43	Norbuprénorphine	90	Métabolite zolpidem
44	Cocaine	91	Tramadol
45	Benzoylécgonine	92	Alizapride
46	6MAM	93	Nitrazépam
47	Propériciazine		

**Annexe 6 :** Liste des molécules devant idéalement être recherchées dans la méthode « psychotropes » et leurs critères de choix.

Molécules recherchées	Listes officielles			Enquêtes nationales	Cas traités par Limoges	Cas rapportés
	Afssaps	SFTA	SOFT			
7-amino-clonazépan	×	×	×		×	×
7-amino-flunitrazépan	×	×	×		×	×
alprazolam	×	×	×	×	×	×
bromazépan	×	×		×	×	×
clobazam	×	×		×	×	×
clonazépan	×		×	×	×	×
diazépan	×	×	×	×	×	×
flunitrazépan	×		×	×		×
loprazolam	×			×	×	
lorazépan	×	×	×	×	×	×
lormetazépan	×	×		×	×	×
midazolam	×	×		×	×	×
nordazépan	×	×	×	×	×	×
oxazépan	×	×	×	×	×	×
prazépan	×			×		
témazépan	×	×	×	×	×	
tétrazépan	×	×		×	×	×
triazolam	×	×	×	×	×	
zopiclone	×	×		×	×	×
zolpidem	×	×	×	×	×	×
alimémazine	×	×			×	
cyamémazine	×	×		×	×	×
lévomépromazine	×	×			×	
halopéridol	×	×			×	
kétamine	×	×	×	×		
doxylamine	×	×	×	×		×
hydroxyzine	×	×		×	×	×
scopolamine		×	×	×	×	×
niaprazine		×			×	×
diphenhydramine	×	×	×			×
propoxyphène			×	×	×	
tramadol				×	×	×
buprénorphine	×				×	×
méthadone			×		×	×
LSD	×			×		×

**Annexe 7 : Modes opératoires des différentes incubations et extractions testées lors de la mise au point de la méthode « psychotropes ».**

	1	2	3	4	5	6	7
<b>Cheveux (mg)</b>	50	50	50	50	50	50	50
<b>Solution fille à 10 mg/L (µL)</b>	100	100	100	100	100	100	100
<b>Solution E.I. à 1 mg/L (µL)</b>	100	100	100	100	100	100	100
<b>Solvant d'hydrolyse</b>	méthanol	méthanol +1% d'acide formique	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> pH 5	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> pH 5	tampon Sorensen	tampon Sorensen	HCl 0,1 N
<b>Agitation planaire pendant une nuit</b>							
<b>Centrifugation</b>							
<b>Extraction</b>	/	/	<p>SPE : cartouches MCX conditionnées par 2 mL de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> pH 6 puis 2 mL d'eau</p> <p>transfert du surnageant, lavage par 2 mL d'eau, 1,5 mL d'HCl 0,1 N puis 2 mL de méthanol</p> <p>élution par 3 mL de dichlorométhane/propan-2-ol (80/20) + 2% d'ammoniaque</p>	<p>+ 1 mL de NaOH 0,25 N</p> <p>+ 5 mL de dichlorométhane/éther (80/20)</p> <p>agitation et centrifugation</p> <p>élimination de la phase aqueuse à la pompe à vide</p>	<p>SPE : cartouches HLB conditionnées par 2 mL de méthanol puis 2 mL d'eau</p> <p>transfert du surnageant</p> <p>lavage par 3 mL d'eau puis 3 mL de eau/méthanol (90/10)</p> <p>élution par 3 mL de dichlorométhane/propan-2-ol (75/25)</p>	<p>+ 5 mL de dichlorométhane/éther (80/20)</p> <p>agitation et centrifugation</p> <p>élimination de la phase aqueuse à la pompe à vide</p>	<p>+ 0,7 mL de NaOH 0,25 N</p> <p>+ 5 mL de dichlorométhane/éther (80/20)</p> <p>agitation et centrifugation</p> <p>élimination de la phase aqueuse à la pompe à vide</p>
<b>Evaporation sous courant d'azote à température ambiante</b>							
<b>Reprise par tampon formiate pH 3/acétonitrile (90/10)</b>							

**Annexe 8 :** Transitions MRM et paramètres de masse [Declustering Potential (DP), Entrance Potential (EP), Cell Entrance Potential (CEP), Collision Energy (CE) and Cell Exit Potential (CXP)] pour les analytes et les EI.

Composés	MRM	DP (V)	EP (V)	CEP (V)	CE (V)	CXP (V)
<b>7-aminoclonazépam</b>	286,0 > 121,0	51	7,0	16	43	4
	286,0 > 222,2	51	7,0	16	35	8
<b>7-aminoflunitrazépam</b>	284,1 > 135,0	46	5,0	28	37	4
	284,1 > 227,0	46	5,0	28	35	6
<b>Alimémazine</b>	299,2 > 100,2	41	6,0	18	23	4
	299,2 > 58,1	41	6,0	18	47	8
<b>Alprazolam</b>	309,0 > 281,0	46	4,5	16	37	4
	309,0 > 205,1	46	4,5	16	53	6
<b>Bromazépam</b>	318,0 > 182,0	51	5,0	14	41	4
	318,0 > 209,1	51	5,0	14	39	4
<b>Buprénorphine</b>	468,3 > 396,3	86	5,0	46	47	8
<b>Clobazam</b>	301,0 > 259,2	41	4,5	14	29	6
	301,0 > 224,1	41	4,5	14	45	4
<b>Clonazépam</b>	316,1 > 270,1	41	6,0	16	31	4
	316,1 > 214,1	41	6,0	16	53	4
<b>Cyamémazine</b>	324,2 > 58,2	41	8,0	14	49	8
	324,2 > 100,1	41	8,0	14	27	4
<b>Diazépam</b>	285,0 > 154,0	51	3,5	16	37	4
	285,0 > 193,1	51	3,5	16	43	4
<b>Diphenhydramine</b>	256,2 > 167,1	16	3,5	18	17	4
	256,2 > 152,1	16	3,5	18	47	4
<b>Doxylamine</b>	271,2 > 167,0	26	5,5	34	43	4
	271,2 > 182,2	26	5,5	34	21	4
<b>Flunitrazépam</b>	314,0 > 268,0	41	4,5	14	37	4
	314,0 > 239,1	41	4,5	14	49	4
<b>Halopéridol</b>	376,1 > 165,1	46	9,0	16	31	4
	376,1 > 123,0	46	9,0	16	53	4
<b>Hydroxyzine</b>	375,1 > 201,2	26	9,5	16	25	6
	375,1 > 166,2	26	9,5	16	51	4
<b>Kétamine</b>	238,2 > 125,0	36	3,0	20	31	4
	238,2 > 179,1	36	3,0	20	21	4
<b>Lévomépromazine</b>	329,2 > 58,1	41	4,0	14	55	6
	329,2 > 100,0	41	4,0	14	25	4
<b>Loprazolam</b>	465,1 > 111,0	56	4,5	20	33	4
	465,1 > 252,0	56	4,5	20	57	4
<b>Lorazépam</b>	321,0 > 274,9	41	3,5	32	27	4
	321,0 > 303,0	41	3,5	32	19	12
<b>Lormetazépam</b>	335,0 > 289,1	31	9,0	26	29	4
	335,0 > 177,1	31	9,0	26	59	4

<b>Composés</b>	<b>MRM</b>	<b>DP (V)</b>	<b>EP (V)</b>	<b>CEP (V)</b>	<b>CE (V)</b>	<b>CXP (V)</b>
<b>LSD</b>	324,2 > 223,3	51	6,0	14	29	6
	324,2 > 208,1	51	6,0	14	37	4
<b>Méthadone</b>	310,2 > 265,1	36	4,5	18	17	8
	310,2 > 105,2	36	4,5	18	33	4
<b>Midazolam</b>	326,1 > 291,2	61	4,0	16	39	8
	326,1 > 249,0	61	4,0	16	47	4
<b>Niaprazine</b>	357,2 > 106,0	46	7,5	18	51	4
	357,2 > 177,3	46	7,5	18	31	4
<b>Nordazépam</b>	271,0 > 140,0	46	8,5	24	39	4
	271,0 > 165,0	46	8,5	24	37	4
<b>Oxazépam</b>	287,0 > 241,1	36	4,0	20	33	4
	287,0 > 269,1	36	4,0	20	19	8
<b>Prazépam</b>	325,1 > 271,1	41	7,5	26	27	4
	325,1 > 140,2	41	7,5	26	51	4
<b>Propoxyphène</b>	340,2 > 58,2	11	5,0	18	29	8
	340,2 > 266,3	11	5,0	18	13	4
<b>Scopolamine</b>	304,2 > 138,0	36	4,5	36	21	4
	304,2 > 156,2	36	4,5	36	27	4
<b>Témazépam</b>	301,0 > 255,0	36	4,0	14	31	4
	301,0 > 283,1	36	4,0	14	17	4
<b>Tétrazépam</b>	289,0 > 225,1	51	7,5	40	39	4
	289,0 > 197,2	51	7,5	40	43	4
<b>Tramadol</b>	264,2 > 58,2	26	3,0	14	29	8
<b>Triazolam</b>	343,0 > 308,1	51	12,0	16	35	6
	343,0 > 239,2	51	12,0	16	57	4
<b>Zolpidem</b>	308,2 > 234,9	56	9,5	16	47	4
	308,2 > 263,2	56	9,5	16	33	4
<b>Zopiclone</b>	389,1 > 245,1	21	5,0	22	21	8
	389,1 > 217,1	21	5,0	22	41	4
<b>Buprénorphine-d4</b>	472,4 > 472,4	86	8,5	26	20	8
<b>Flunitrazépam-d7</b>	321,2 > 275,2	56	7,5	12	35	4
<b>LSD-d3</b>	327,3 > 226,0	56	4,0	16	29	4
<b>Méthadone-d9</b>	319,3 > 268,3	36	3,5	14	19	4
<b>Scopolamine-d3</b>	307,2 > 159,2	36	4,0	16	21	4



**Annexe 9 :** Temps de rétention relatif (Trr) et intensité relative des transitions (I.R.T.) pour les 35 molécules, avec leur étalon interne (EI).

<b>Analyte</b>	<b>EI</b>	<b>Trr</b>	<b>I.R.T.</b>
<b>7-aminoclonazépam</b>	Flunitrazépam-d7	0,54	44 %
<b>7-aminoflunitrazépam</b>	Flunitrazépam-d7	0,59	30 %
<b>Alimémazine</b>	Méthadone-d9	0,95	118 %
<b>Alprazolam</b>	Flunitrazépam-d7	0,91	87 %
<b>Bromazépam</b>	Flunitrazépam-d7	0,69	72 %
<b>Buprénorphine</b>	Buprénorphine-d4	1,00	-
<b>Clobazam</b>	Flunitrazépam-d7	1,02	26 %
<b>Clonazépam</b>	Flunitrazépam-d7	0,96	25 %
<b>Cyamémazine</b>	Méthadone-d9	0,94	74 %
<b>Diazépam</b>	Flunitrazépam-d7	1,07	98 %
<b>Diphenhydramine</b>	LSD-d3	1,16	21 %
<b>Doxylamine</b>	Scopolamine-d3	1,21	128 %
<b>Flunitrazépam</b>	Flunitrazépam-d7	1,00	38 %
<b>Halopéridol</b>	Méthadone-d9	0,86	101 %
<b>Hydroxyzine</b>	Méthadone-d9	0,91	40 %
<b>Kétamine</b>	Scopolamine-d3	1,15	29 %
<b>Lévomépromazine</b>	Méthadone-d9	0,99	82 %
<b>Loprazolam</b>	Flunitrazépam-d7	0,59	26 %
<b>Lorazépam</b>	Flunitrazépam-d7	0,93	42 %
<b>Lormétazépam</b>	Flunitrazépam-d7	1,02	8 %
<b>LSD</b>	LSD-d3	1,00	44 %
<b>Méthadone</b>	Méthadone-d9	1,01	77 %
<b>Midazolam</b>	Flunitrazépam-d7	0,61	30 %
<b>Niaprazine</b>	Méthadone-d9	0,63	83 %
<b>Nordazépam</b>	Flunitrazépam-d7	1,00	52 %
<b>Oxazépam</b>	Flunitrazépam-d7	0,88	66 %
<b>Prazépam</b>	Flunitrazépam-d7	1,17	29 %
<b>Propoxyphène</b>	Méthadone-d9	0,98	23 %
<b>Scopolamine</b>	Scopolamine-d3	1,00	73 %
<b>Témazépam</b>	Flunitrazépam-d7	1,00	39 %
<b>Tétrazépam</b>	Flunitrazépam-d7	1,11	76 %
<b>Tramadol</b>	Scopolamine-d3	1,27	-
<b>Triazolam</b>	Flunitrazépam-d7	0,93	79 %
<b>Zolpidem</b>	Flunitrazépam-d7	0,52	61 %
<b>Zopiclone</b>	Flunitrazépam-d7	0,47	33 %

**Annexe 10 :** Limite de détection (LDD) et de quantification (LDQ), variabilité intra- et inter-jours à 3 niveaux de concentration pour les 35 psychotropes.

Composés	LDD	LDQ	Variabilité inter-jour en % (coefficient de variation/biais relatif)			Variabilité intra-jour en % (coefficient de variation/biais relatif)		
			LDQ	C2	Cmax	LDQ	C2	Cmax
7-aminoclonazepam	1	5	19,6 /-9,84	15,5 /-19,6	14,4 /-4,60	16,8 /-16,4	17,3 /-13,8	10,1 /-13,8
7-aminoflunitrazepam	0,5	5	19,3 /-16,6	19,6 /-16,7	7,50 /-3,52	20,4 /-3,60	18,7 /-16,7	10,7 / 3,32
Alimémazine	0,5	0,5	16,7 / 7,68	5,61 /-16,6	6,93 /-1,52	9,33 /-1,80	9,41 /-8,60	7,87 /-12,2
Alprazolam	0,5	0,5	9,23 / 13,4	12,5 / 1,30	8,53 /-2,72	18,9 /-8,84	11,2 / 9,40	6,35 / 5,24
Bromazépam	5	5	8,78 /-14,8	18,0 /-12,7	5,96 /-0,28	11,9 / 7,96	12,1 / 1,30	5,93 /-8,96
Buprénorphine	5	5	17,0 /-4,44	15,1 /-13,1	6,37 /-3,40	15,7 /-8,56	17,3 /-7,00	3,93 /-0,12
Clobazam	0,5	1	18,6 /-4,38	7,82 / 0,80	8,00 / 2,92	4,04 / 21,8	2,91 / 8,00	4,47 / 6,20
Clonazépam	1	5	17,5 /-4,84	7,55 / 6,70	0,71 / 2,52	19,1 /-6,08	5,02 / 7,50	5,35 / 7,72
Cyamémazine	0,5	1	8,71 / 10,8	10,3 /-15,1	8,67 /-2,92	3,75 / 5,00	8,47 /-0,60	4,97 /-6,24
Diazépam	0,5	5	13,8 /-9,48	10,2 /-1,20	6,22 / 0,64	11,5 /-1,76	6,01 / 9,50	5,60 / 9,68
Diphenhydramine	0,5	0,5	22,5 / 5,64	12,3 /-11,9	8,95 / 0,32	8,27 / 19,2	14,2 / 7,40	7,08 / 10,0
Doxylamine	0,5	0,5	16,3 / 5,92	16,6 /-2,40	15,5 /-2,08	17,3 /-3,80	9,65 / 8,60	6,33 /-3,56
Flunitrazépam	0,5	0,5	14,6 / 11,8	6,41 / 3,20	6,99 /-0,88	11,2 /-4,96	5,12 / 3,90	5,03 / 8,48
Halopéridol	0,5	1	14,0 / 6,76	16,8 /-18,2	8,44 / 1,32	6,77 /-5,24	10,1 / 3,50	13,1 /-6,68
Hydroxyzine	0,5	1	7,82 / 6,88	12,4 /-12,2	5,21 /-3,52	13,6 /-1,84	5,38 /-0,70	7,99 / 1,00
Kétamine	0,5	0,5	19,1 / 2,08	11,2 / 1,30	10,8 / 8,68	11,3 /-12,9	9,98 / 7,40	10,1 / 0,64
Lévomépromazine	1	5	14,5 /-7,84	8,80 /-17,9	11,4 /-4,68	14,0 /-3,16	12,2 /-16,8	8,99 /-11,5
Loprazolam	10	10	15,8 /-10,4	9,61 /-8,20	13,9 / 9,12	12,2 / 3,44	10,3 / 10,7	5,44 /-13,8
Lorazépam	5	5	8,45 /-2,52	8,99 / 5,70	9,69 / 1,40	13,0 /-6,28	3,57 / 1,20	5,97 / 11,0
Lormétazépam	1	5	7,66 /-4,28	5,47 / 4,10	3,83 / 2,84	14,4 / 1,08	3,07 / 7,20	5,61 /-1,28
LSD	0,5	0,5	6,85 / 8,44	5,98 /-9,90	3,77 /-5,72	12,7 / 6,25	4,61 / 0,70	4,27 /-2,00
Méthadone	0,5	0,5	8,20 / 11,2	7,48 /-11,1	6,65 /-5,12	7,32 / 14,4	7,48 /-0,10	6,13 /-0,84
Midazolam	1	1	19,7 /-2,80	12,1 /-4,80	11,3 / 13,6	22,1 / 13,4	8,77 / 15,5	15,3 /-14,1
Niaprazine	0,5	0,5	15,5 / 10,4	17,0 /-8,40	16,4 /-12,0	18,0 / 2,40	15,9 /-11,0	17,5 /-4,12
Nordazépam	1	5	19,8 /-8,08	4,41 / 2,20	5,53 / 2,16	14,4 /-17,8	9,63 / 6,40	5,02 / 15,4
Oxazépam	5	5	7,98 /-8,52	11,0 / 7,90	14,5 / 5,68	16,5 /-1,52	1,27 / 9,80	3,95 / 1,76
Prazépam	0,5	1	18,6 /-9,42	12,7 /-17,1	10,0 / 9,24	9,64 / 1,16	17,2 / 19,0	13,1 / 18,1
Propoxyphène	1	1	13,0 / 16,1	14,7 /-9,20	7,24 / 3,40	6,40 /-4,88	12,8 / 1,40	5,80 /-3,60
Scopolamine	0,5	0,5	5,81 /-2,48	7,20 /-0,30	5,66 / 0,24	16,2 /-2,44	2,94 /-1,50	3,28 /-2,48
Témazépam	1	1	12,1 /-4,04	6,63 / 3,10	5,40 / 0,08	7,58 / 4,88	4,87 / 3,50	3,67 / 8,20
Tétrazépam	5	5	11,1 /-9,00	8,53 /-2,50	12,4 / 10,9	5,52 /-13,5	9,42 / 16,2	11,1 / 11,7
Tramadol	0,5	0,5	19,4 /-1,68	8,26 /-0,90	7,40 /-0,68	12,8 /-19,4	9,31 / 11,4	14,4 /-9,28
Triazolam	0,5	0,5	9,02 / 6,92	9,98 /-4,00	3,59 / 3,96	18,8 /-5,64	14,1 / 1,10	5,65 / 9,16
Zolpidem	0,5	0,5	17,6 / 6,80	5,71 / 10,4	13,7 / 6,60	10,4 /-0,52	6,67 / 11,7	6,54 /-13,4
Zopiclone	0,5	0,5	19,6 /-11,8	11,2 / 9,70	16,7 / 0,00	23,7 /-18,0	4,07 / 12,6	8,48 / 2,24

C2 : concentration intermédiaire, 20 pg/mg

Cmax : concentration maximale, 500 pg/mg

**Annexe 11 :** Comparaison des LDD et LDQ de la méthode « psychotropes » avec celles de méthodes publiées précédemment.

Molécule	Chèze et al. [31]		Villain et al. [53]		Salomone et al. [56]		Morini et al. [54]		Lendoiro et al. [57]		Rust et al. [55]		Méthode “psychotropes” [49]	
	LDD	LDQ	LDD	LDQ	LDD	LDQ	LDD	LDQ	LDD	LDQ	LDD	LDQ	LDD	LDQ
7-aminoclonazépam	2	10	-	5	-	-	0,1	0,3	-	-	-	10	1	5
7-aminoflunitrazépam	2	5	-	2	-	-	0,1	0,3	-	-	-	3,3	0,5	5
Alimémazine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	0,5
Alprazolam	0,5	2	-	1	1,8	5,9	0,1	0,3	5	10	-	1,6	0,5	0,5
Bromazépam	1-2	5	-	2	2	6,7	1	3	5	20	-	-	5	5
Buprénorphine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	5
Clobazam	1	2	-	2	-	-	0,3	1	-	-	-	-	0,5	1
Clonazépam	0,5	2	-	-	0,6	2	0,3	1,5	10	20	-	10	1	5
Cyamémazine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	1
Diazépam	1	2	-	1	0,5	1,7	0,1	0,3	2	5	-	1,6	0,5	5
Diphenhydramine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	0,5
Doxylamine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	0,5
Flunitrazépam	1	2	-	-	4	13,2	0,1	0,3	2	5	-	10	0,5	0,5
Halopéridol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	1
Hydroxyzine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	1
Kétamine	-	-	-	-	0,2	0,7	-	-	2	5	-	-	0,5	0,5
Lévomépromazine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	5
Loprazolam	2	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	10
Lorazépam	2	5	-	5	3,2	10,6	1	5	2	5	-	10	5	5
Lormétazépam	1	2-5	-	1	2,4	7,9	0,3	1,5	2	5	-	3,3	1	5
LSD	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	0,5	-	-	0,5	0,5
Méthadone	-	-	-	-	-	-	-	-	2	20	-	-	0,5	0,5
Midazolam	1	5	-	0,5	-	-	0,1	0,3	-	-	-	3,3	1	1
Niaprazine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	0,5
Nordazépam	1	5	-	2	1,2	4	0,3	1	2	5	-	3,3	1	5
Oxazépam	1	5	-	1	-	-	1	5	10	20	-	10	5	5
Prazépam	2	5	-	-	-	-	0,3	1	-	-	-	0,6	0,5	1
Propoxyphène	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
Scopolamine	-	-	-	-	0,7	2,3	-	-	2	5	-	-	0,5	0,5
Témazépam	1	5	-	1	-	-	0,3	1	-	-	-	3,3	1	1
Tétrazépam	10	-	-	5	-	-	-	-	10	20	-	-	5	5
Tramadol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	0,5
Triazolam	0,5	2	-	0,5	0,7	2,3	0,1	0,5	5	10	-	3,3	0,5	0,5
Zolpidem	1	5	-	0,5	0,2	0,7	0,1	0,3	2	5	-	1,6	0,5	0,5
Zopiclone	1	5	-	-	0,9	3	-	-	5	10	-	10	0,5	0,5

**Annexe 12 :** Transitions MRM et paramètres de masse [Declustering Potential (DP), Entrance Potential (EP), Cell Entrance Potential (CEP), Collision Energy (CE) and Cell Exit Potential (CXP)] pour les analytes et les EI.

Composés	MRM	DP (V)	EP (V)	CEP (V)	CE (V)	CXP (V)
<b>1-hydroxymidazolam</b>	342,0 > 324,2	51	5,5	18	31	12
	342,0 > 203,1	51	5,5	18	35	4
<b>2-oxo-3-hydroxy-LSD</b>	356,2 > 237,3	36	8,5	16	31	8
	356,2 > 222,2	36	8,5	16	39	4
<b>3-hydroxybromazépam</b>	334,0 > 289,1	46	9,5	14	25	8
	334,0 > 78,1	46	9,5	14	61	4
	334,0 > 304,9	46	9,5	14	25	10
<b>4-hydroxymidazolam</b>	342,0 > 324,8	46	7,5	20	29	12
	342,0 > 234,0	46	7,5	20	33	4
<b>7-aminoclonazépam</b>	286,0 > 121,0	51	7,0	16	43	4
	286,0 > 222,2	51	7,0	16	35	8
<b>7-aminoflunitrazépam</b>	284,1 > 135,0	46	5,0	28	37	4
	284,1 > 227,0	46	5,0	28	35	6
<b>Alimémazine</b>	299,2 > 100,2	41	6,0	18	23	4
	299,2 > 58,1	41	6,0	18	47	8
<b>Alprazolam</b>	309,0 > 281,0	46	4,5	16	37	4
	309,0 > 205,1	46	4,5	16	53	6
<b>Bromazépam</b>	318,0 > 182,0	51	5,0	14	41	4
	318,0 > 209,1	51	5,0	14	39	4
<b>Buprénorphine</b>	468,3 > 396,3	86	5,0	46	47	8
<b>Cétirizine</b>	389,2 > 201,1	41	7	16	27	6
	389,2 > 166,2	41	7	16	51	4
<b>Clobazam</b>	301,0 > 259,2	41	4,5	14	29	6
	301,0 > 224,1	41	4,5	14	45	4
<b>Clonazépam</b>	316,1 > 270,1	41	6,0	16	31	4
	316,1 > 214,1	41	6,0	16	53	4
<b>Cyamémazine</b>	324,2 > 58,2	41	8,0	14	49	8
	324,2 > 100,1	41	8,0	14	27	4
<b>Déhydronorkétamine</b>	222,0 > 142,2	26	6	12	33	4
	222,0 > 177,1	26	6	12	21	4
<b>Diazépam</b>	285,0 > 154,0	51	3,5	16	37	4
	285,0 > 193,1	51	3,5	16	43	4
<b>Diphenhydramine</b>	256,2 > 167,1	16	3,5	18	17	4
	256,2 > 152,1	16	3,5	18	47	4
<b>Doxylamine</b>	271,2 > 167,0	26	5,5	34	43	4
	271,2 > 182,2	26	5,5	34	21	4
<b>EDDP</b>	278,2 > 234,3	61	3,5	20	41	6
	278,2 > 249,2	61	3,5	20	33	8
<b>Flunitrazépam</b>	314,0 > 268,0	41	4,5	14	37	4
	314,0 > 239,1	41	4,5	14	49	4
<b>Halopéridol</b>	376,1 > 165,1	46	9,0	16	31	4
	376,1 > 123,0	46	9,0	16	53	4
<b>Halopéridol réduit</b>	378,2 > 109,1	46	7	16	65	4

Composés	MRM	DP (V)	EP (V)	CEP (V)	CE (V)	CXP (V)
	378,2 > 129,2	46	7	16	51	4
<b>Hydroxyalprazolam</b>	325,1 > 297,2	51	5	16	33	10
	325,1 > 216,1	51	5	16	53	4
<b>Hydroxytriazolam</b>	359,0 > 331,2	61	6	16	37	10
	359,0 > 176,1	61	6	16	37	4
<b>Hydroxyzine</b>	375,1 > 201,2	26	9,5	16	25	6
	375,1 > 166,2	26	9,5	16	51	4
<b>Iso-LSD</b>	324,2 > 208,2	51	5,5	14	39	6
	324,2 > 281,2	51	5,5	14	25	10
<b>Kétamine</b>	238,2 > 125,0	36	3,0	20	31	4
	238,2 > 179,1	36	3,0	20	21	4
<b>Lévomépromazine</b>	329,2 > 58,1	41	4,0	14	55	6
	329,2 > 100,0	41	4,0	14	25	4
<b>Loprazolam</b>	465,1 > 111,0	56	4,5	20	33	4
	465,1 > 252,0	56	4,5	20	57	4
<b>Lorazépam</b>	321,0 > 274,9	41	3,5	32	27	4
	321,0 > 303,0	41	3,5	32	19	12
<b>Lormetazépam</b>	335,0 > 289,1	31	9,0	26	29	4
	335,0 > 177,1	31	9,0	26	59	4
<b>LSD</b>	324,2 > 223,3	51	6,0	14	29	6
	324,2 > 208,1	51	6,0	14	37	4
<b>Méthadone</b>	310,2 > 265,1	36	4,5	18	17	8
	310,2 > 105,2	36	4,5	18	33	4
<b>Midazolam</b>	326,1 > 291,2	61	4,0	16	39	8
	326,1 > 249,0	61	4,0	16	47	4
<b>Niaprazine</b>	357,2 > 106,0	46	7,5	18	51	4
	357,2 > 177,3	46	7,5	18	31	4
<b>Norbuprénorphine</b>	414,5 > 83,2	86	8	26	65	4
<b>Norclobazam</b>	287,1 > 245,2	46	7	28	25	8
	287,1 > 181,3	46	7	28	59	4
<b>Nordazépam</b>	271,0 > 140,0	46	8,5	24	39	4
	271,0 > 165,0	46	8,5	24	37	4
<b>Norkétamine</b>	224,1 > 125,0	21	6,5	14	31	4
	224,1 > 179,2	21	6,5	14	19	4
<b>Nor-iso-LSD</b>	310,2 > 209,3	51	6,5	14	31	6
	310,2 > 74,2	51	6,5	14	35	4
<b>Nor-LSD</b>	310,2 > 209,3	51	6,5	14	31	6
	310,2 > 74,2	51	6,5	14	35	4
<b>Norpropoxyphène</b>	308,2 > 100,1	26	4,5	18	17	4
	308,2 > 143,1	26	4,5	18	29	4
<b>O-desméthyltramadol</b>	250,0 > 58,1	31	4,5	12	37	4
<b>Oxazépam</b>	287,0 > 241,1	36	4,0	20	33	4
	287,0 > 269,1	36	4,0	20	19	8
<b>Propoxyphène</b>	340,2 > 58,2	11	5,0	18	29	8
	340,2 > 266,3	11	5,0	18	13	4
<b>Scopolamine</b>	304,2 > 138,0	36	4,5	36	21	4
	304,2 > 156,2	36	4,5	36	27	4

<b>Composés</b>	<b>MRM</b>	<b>DP (V)</b>	<b>EP (V)</b>	<b>CEP (V)</b>	<b>CE (V)</b>	<b>CXP (V)</b>
<b>Témazépam</b>	301,0 > 255,0	36	4,0	14	31	4
	301,0 > 283,1	36	4,0	14	17	4
<b>Tétrazépam</b>	289,0 > 225,1	51	7,5	40	39	4
	289,0 > 197,2	51	7,5	40	43	4
<b>Tramadol</b>	264,2 > 58,2	26	3,0	14	29	8
<b>Triazolam</b>	343,0 > 308,1	51	12,0	16	35	6
	343,0 > 239,2	51	12,0	16	57	4
<b>Zolpidem</b>	308,2 > 234,9	56	9,5	16	47	4
	308,2 > 263,2	56	9,5	16	33	4
<b>Zopiclone</b>	389,1 > 245,1	21	5,0	22	21	8
	389,1 > 217,1	21	5,0	22	41	4
<b>Buprénorphine-d4</b>	472,4 > 472,4	86	8,5	26	20	8
<b>Flunitrazépam-d7</b>	321,2 > 275,2	56	7,5	12	35	4
<b>LSD-d3</b>	327,3 > 226,0	56	4,0	16	29	4
<b>Méthadone-d9</b>	319,3 > 268,3	36	3,5	14	19	4
<b>Scopolamine-d3</b>	307,2 > 159,2	36	4,0	16	21	4

**Annexe 13 :** Temps de rétention relatif (Trr) et intensité relative des transitions (I.R.T.) pour les 52 molécules, avec leur étalon interne (EI).

Analyte	EI	Trr	I.R.T.
<b>1-hydroxymidazolam</b>	Flunitrazépam-d7	0,77	59 %
<b>2-oxo-3-hydroxy-LSD</b>	LSD-d3	0,67	40 %
<b>3-hydroxybromazépam</b>	Flunitrazépam-d7	0,61	100 %/40 %
<b>4-hydroxymidazolam</b>	Flunitrazépam-d7	0,60	41 %
<b>7-aminoclonazépam</b>	Flunitrazépam-d7	0,54	51 %
<b>7-aminoflunitrazépam</b>	Buprénorphine-d4	0,61	37 %
<b>Alimémazine</b>	Méthadone-d9	0,95	108 %
<b>Alprazolam</b>	Flunitrazépam-d7	0,95	84 %
<b>Bromazépam</b>	Flunitrazépam-d7	0,75	39 %
<b>Buprénorphine</b>	Buprénorphine-d4	1,00	-
<b>Cétirizine</b>	Méthadone-d9	1,02	53 %
<b>Clobazam</b>	Scopolamine-d3	1,02	14 %
<b>Clonazépam</b>	Flunitrazépam-d7	0,97	35 %
<b>Cyamémazine</b>	Méthadone-d9	0,94	30 %
<b>Déhydronorkétamine</b>	Scopolamine-d3	1,05	97 %
<b>Diazépam</b>	Flunitrazépam-d7	1,06	91 %
<b>Diphenhydramine</b>	LSD-d3	1,31	39 %
<b>Doxylamine</b>	Scopolamine-d3	1,26	113 %
<b>EDDP</b>	Méthadone-d9	0,87	37 %
<b>Flunitrazépam</b>	Flunitrazépam-d7	1,00	34 %
<b>Halopéridol</b>	Méthadone-d9	0,86	139 %
<b>Halopéridol réduit</b>	Méthadone-d9	0,76	11 %
<b>Hydroxyalprazolam</b>	Flunitrazépam-d7	0,87	27 %
<b>Hydroxytriazolam</b>	Flunitrazépam-d7	0,86	105 %
<b>Hydroxyzine</b>	Méthadone-d9	0,92	52 %
<b>Iso-LSD</b>	LSD-d3	1,11	61 %
<b>Kétamine</b>	Scopolamine-d3	1,12	28 %
<b>Lévomépromazine</b>	Méthadone-d9	1,00	99 %
<b>Loprazolam</b>	Flunitrazépam-d7	0,63	35 %
<b>Lorazépam</b>	Flunitrazépam-d7	0,96	30 %
<b>Lormetazépam</b>	Flunitrazépam-d7	1,02	18 %
<b>LSD</b>	LSD-d3	1,00	51 %
<b>Méthadone</b>	Méthadone-d9	1,00	100 %
<b>Midazolam</b>	Flunitrazépam-d7	0,68	30 %
<b>Niaprazine</b>	Méthadone-d9	0,74	-
<b>Norbuprénorphine</b>	Buprénorphine-d4	0,50	78 %
<b>Norclobazam</b>	Flunitrazépam-d7	0,96	10 %
<b>Nordazépam</b>	Flunitrazépam-d7	1,00	46 %
<b>Nor-iso-LSD</b>	LSD-d3	1,10	19 %
<b>Norkétamine</b>	Scopolamine-d3	1,09	27 %
<b>Nor-LSD</b>	LSD-d3	1,00	18 %
<b>Norpropoxyphène</b>	Méthadone-d9	0,99	6 %
<b>O-desméthyltramadol</b>	Scopolamine-d3	1,00	-
<b>Oxazépam</b>	Flunitrazépam-d7	0,94	52 %
<b>Propoxyphène</b>	Méthadone-d9	0,98	23 %
<b>Scopolamine</b>	Scopolamine-d3	1,00	91 %
<b>Témazépam</b>	Flunitrazépam-d7	1,00	22 %
<b>Tétrazépam</b>	Flunitrazépam-d7	1,11	70 %
<b>Tramadol</b>	Scopolamine-d3	1,28	-
<b>Triazolam</b>	Flunitrazépam-d7	0,96	74 %
<b>Zolpidem</b>	Flunitrazépam-d7	0,50	63 %
<b>Zopiclone</b>	Flunitrazépam-d7	0,43	57 %

**Annexe 14** : LDD et LDQ sanguines observées lors de la première journée de validation.

Analyte	LDD	LDQ
1-hydroxyimidazolam	0,2	0,2
2-oxo-3-hydroxy-LSD	0,2	0,2
3-hydroxybromazépam	0,5	0,5
4-hydroxyimidazolam	0,2	0,2
7-aminoclonazépam	0,5	0,5
7-aminoflunitrazépam	0,5	0,5
Alimémazine	0,05	0,2
Alprazolam	0,2	0,2
Bromazépam	0,5	0,5
Buprénorphine	0,2	0,2
Cétirizine	0,05	0,05
Clobazam	0,2	0,2
Clonazépam	0,2	0,2
Cyamémazine	0,2	0,2
Déhydronorkétamine	0,05	0,05
Diazépam	0,05	0,2
Diphenhydramine	0,05	0,05
Doxylamine	0,05	0,05
EDDP	0,05	0,05
Flunitrazépam	0,2	0,2
Halopéridol	0,05	0,2
Halopéridol réduit	0,2	0,2
Hydroxyalprazolam	1	1
Hydroxytriazolam	0,5	0,5
Hydroxyzine	0,05	0,05
Iso-LSD	0,05	0,05
Kétamine	0,05	0,05
Lévomépromazine	0,2	0,2
Loprazolam	1	1
Lorazépam	0,2	0,2
Lormetazépam	0,2	0,2
LSD	0,05	0,05
Méthadone	0,05	0,05
Midazolam	0,2	0,2
Niaprazine	0,05	0,05
Norbuprénorphine	0,2	0,2
Norclobazam	1	1
Nordazépam	0,2	0,2
Nor-iso-LSD	0,5	0,5
Norkétamine	0,05	0,05
Nor-LSD	0,2	0,2
Norpropoxyphène	5	5
O-desméthyltramadol	0,05	0,05
Oxazépam	0,2	0,2
Propoxyphène	0,2	0,2
Scopolamine	0,05	0,05
Témazépam	0,2	0,2
Tétrazépam	0,2	0,2
Tramadol	0,05	0,05
Triazolam	0,2	0,2
Zolpidem	0,05	0,05
Zopiclone	0,05	0,05



**Annexe 15 : Formulaire de déclaration d'un cas de soumission chimique à un CEIP.**

<b>Enquête " SOUMISSION CHIMIQUE "</b> (Usage criminel de produits psychoactifs)			
<p><i>CEIP de .....</i> <i>Date d'enregistrement :</i> <i>N° local d'enregistrement du cas :</i></p> <p>• <i>Origine de la notification :</i> - <i>Ville :</i> - <i>Structure :</i></p> <table style="width: 100%;"><tr><td style="width: 50%; vertical-align: top;">• <i>Médecin examinateur :</i> - <i>Nom :</i> - <i>Adresse</i></td><td style="width: 50%; vertical-align: top;">• <i>Toxicologue analyste :</i> - <i>Nom :</i> - <i>Adresse</i></td></tr></table>		• <i>Médecin examinateur :</i> - <i>Nom :</i> - <i>Adresse</i>	• <i>Toxicologue analyste :</i> - <i>Nom :</i> - <i>Adresse</i>
• <i>Médecin examinateur :</i> - <i>Nom :</i> - <i>Adresse</i>	• <i>Toxicologue analyste :</i> - <i>Nom :</i> - <i>Adresse</i>		

<b><u>RENSEIGNEMENTS CONCERNANT LA VICTIME</u></b>															
<p>• Origine du cas</p> <table style="width: 100%;"><tr><td style="width: 50%;">- Date et heure des faits :</td><td style="width: 50%;">- Date et heure de prise en charge :</td></tr><tr><td>- Circonstances de prise en charge :</td><td></td></tr><tr><td><input type="checkbox"/> Dépôt de plainte</td><td><input type="checkbox"/> Découverte par la police ou la gendarmerie</td></tr><tr><td><input type="checkbox"/> Présentation spontanée à l'hôpital</td><td><input type="checkbox"/> Autre (préciser) :</td></tr></table>		- Date et heure des faits :	- Date et heure de prise en charge :	- Circonstances de prise en charge :		<input type="checkbox"/> Dépôt de plainte	<input type="checkbox"/> Découverte par la police ou la gendarmerie	<input type="checkbox"/> Présentation spontanée à l'hôpital	<input type="checkbox"/> Autre (préciser) :						
- Date et heure des faits :	- Date et heure de prise en charge :														
- Circonstances de prise en charge :															
<input type="checkbox"/> Dépôt de plainte	<input type="checkbox"/> Découverte par la police ou la gendarmerie														
<input type="checkbox"/> Présentation spontanée à l'hôpital	<input type="checkbox"/> Autre (préciser) :														
<p>• Description du sujet</p> <table style="width: 100%;"><tr><td style="width: 50%;">- Date de naissance :</td><td style="width: 50%;">- Sexe : <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F</td></tr><tr><td>- Traitement en cours <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non</td><td></td></tr><tr><td colspan="2">- Si oui détailler les traitements (Nom , posologie, date de début de traitement):</td></tr></table> <table style="width: 100%;"><tr><td style="width: 50%;">- La victime fait elle usage de stupéfiants <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non</td><td style="width: 50%;"></td></tr><tr><td colspan="2">Si oui, lesquels</td></tr><tr><td style="width: 50%;">- La victime a-t-elle pris des médicaments après l'agression <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non</td><td style="width: 50%;"></td></tr><tr><td colspan="2">Si oui, lesquels</td></tr></table>		- Date de naissance :	- Sexe : <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F	- Traitement en cours <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non		- Si oui détailler les traitements (Nom , posologie, date de début de traitement):		- La victime fait elle usage de stupéfiants <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non		Si oui, lesquels		- La victime a-t-elle pris des médicaments après l'agression <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non		Si oui, lesquels	
- Date de naissance :	- Sexe : <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F														
- Traitement en cours <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non															
- Si oui détailler les traitements (Nom , posologie, date de début de traitement):															
- La victime fait elle usage de stupéfiants <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non															
Si oui, lesquels															
- La victime a-t-elle pris des médicaments après l'agression <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non															
Si oui, lesquels															
<p>• Nature de l'infraction :</p> <table style="width: 100%;"><tr><td><input type="checkbox"/> Agression sexuelle</td><td><input type="checkbox"/> Autre (préciser)</td><td><input type="checkbox"/> Vol</td><td><input type="checkbox"/> Inconnue</td></tr></table>		<input type="checkbox"/> Agression sexuelle	<input type="checkbox"/> Autre (préciser)	<input type="checkbox"/> Vol	<input type="checkbox"/> Inconnue										
<input type="checkbox"/> Agression sexuelle	<input type="checkbox"/> Autre (préciser)	<input type="checkbox"/> Vol	<input type="checkbox"/> Inconnue												
<p>• Description du ou des agresseurs :</p> <table style="width: 100%;"><tr><td style="width: 50%;">- Amnésie de la victime <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non</td><td style="width: 50%;"></td></tr><tr><td>- Nombre d'agresseurs :</td><td>- Sexe : ..... <input type="checkbox"/> M ..... <input type="checkbox"/> F</td></tr><tr><td>- Connu(s) de la victime : <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non</td><td></td></tr><tr><td colspan="2">Si oui, lien avec la victime : conjoint, parent, connaissance</td></tr></table>		- Amnésie de la victime <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non		- Nombre d'agresseurs :	- Sexe : ..... <input type="checkbox"/> M ..... <input type="checkbox"/> F	- Connu(s) de la victime : <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non		Si oui, lien avec la victime : conjoint, parent, connaissance							
- Amnésie de la victime <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non															
- Nombre d'agresseurs :	- Sexe : ..... <input type="checkbox"/> M ..... <input type="checkbox"/> F														
- Connu(s) de la victime : <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non															
Si oui, lien avec la victime : conjoint, parent, connaissance															

<b>ANAMNESE – CIRCONSTANCES DE L'AGRESSION</b>	
<p>Récit de la victime <input type="checkbox"/> d'un tiers <input type="checkbox"/></p>	



# TABLES DES MATIÈRES

---

SOMMAIRE	7
LISTE DES ABRÉVIATIONS	8
INTRODUCTION	10
I. GÉNÉRALITÉS SUR LA SOUMISSION CHIMIQUE	13
I.1. Profil type d'une substance de soumission chimique	13
I.1.1. Les effets recherchés	13
I.1.1.1. Effet amnésiant	13
I.1.1.2. Effet sédatif ou hypnotique	14
I.1.1.3. Effet désinhibiteur	15
I.1.1.4. Effet hallucinogène	15
I.1.1.5. Symptomatologie peu évocatrice	15
I.1.2. Les caractéristiques d'une substance « idéale »	16
I.1.2.1. Facilité d'obtention	16
I.1.2.2. Action rapide, de courte durée	16
I.1.2.3. Administration discrète à la victime	17
I.1.2.4. Difficultés de mise en évidence	18
I.2. Substances utilisées	19
I.3. La prise en charge médicale des victimes supposées de soumission chimique	21
I.3.1. Pour une prise en charge optimale	21
I.3.2. Les prélèvements biologiques nécessaires à la mise en évidence de l'agent de soumission chimique	22
II. TRAVAIL PERSONNEL	24
II.1. L'étape pré-analytique : élaboration d'une stratégie analytique	24
II.1.1. Les substances à rechercher dans un contexte de soumission chimique	24
II.1.2. Les différentes matrices disponibles et leurs intérêts	27
II.1.2.1. Les liquides biologiques : sang et urine	27
II.1.2.2. Intérêt toxicologique des analyses capillaires	28
II.1.2.3. L'apport des différentes matrices selon le délai écoulé entre les faits et la réalisation des prélèvements	31
II.1.3. Les techniques analytiques	33
II.1.3.1. L'immunochimie	33
II.1.3.2. Les techniques chromatographiques	33

II.2. Nouvelles méthodes analytiques développées pour les cas de soumission chimique	37
II.2.1. Détection et quantification de 35 psychotropes dans les prélèvements capillaires	37
II.2.1.1. Définition de la liste des molécules à rechercher	37
II.2.1.2. Matériel et méthodes	40
II.2.1.3. Données de validation	53
II.2.1.4. Discussion	54
II.2.2. Transposition de la méthode « psychotropes » dans le sang et l'urine	57
II.2.2.1. Définition de la liste des molécules à rechercher	57
II.2.2.2. Matériel et méthodes	59
II.2.2.3. Données de validation	65
II.2.2.4. Discussion	66
II.3. Particularités de l'étape post-analytique dans le contexte de soumission chimique	67
II.3.1. Interprétation par le toxicologue	67
II.3.1.1. Cas des benzodiazépines	67
II.3.1.2. Cas du GHB	68
II.3.1.3. Cas des analyses capillaires	68
II.3.2. Interprétation par la justice pénale	69
II.3.2.1. À l'étranger	69
II.3.2.2. En France	70
II.3.3. Exemples de cas avérés de soumission chimique	72
II.3.3.1. Cas n° 1	72
II.3.3.2. Cas n° 2	74
CONCLUSION	76
BIBLIOGRAPHIE	78
INDEX DES FIGURES ET TABLEAUX	84
ANNEXES	86

## SERMENT DE GALIEN

---

**J**e jure, en présence des maîtres de la faculté et de mes condisciples :

- d'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;
- d'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- de ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

**Julie MAUBLANC**

## **THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

---

### **TITRE : Stratégie analytique lors de la prise en charge des cas de soumission chimique**

**RÉSUMÉ :** Depuis une décennie, la soumission chimique est un phénomène de plus en plus connu. Ne concernant pas uniquement les agressions sexuelles, elle est susceptible de toucher toute la population. A cause de l'amnésie provoquée par l'agent de soumission chimique, les victimes se manifestent souvent tardivement après les faits, compliquant l'établissement du diagnostic. L'objectif de ce travail était de contribuer à l'amélioration de la documentation toxicologique de tels cas.

Deux schémas ont été établis, permettant de « prioriser » les analyses à effectuer en fonction des signes cliniques, et du délai entre les faits et la réalisation des prélèvements. Ensuite, deux méthodes analytiques complémentaires ont été développées sur le même système CL-SM/SM pour la recherche simultanée des principales substances utilisées en soumission chimique.

La première permet de détecter 35 psychotropes et métabolites dans les cheveux. La seconde, qui concerne le sang ou l'urine, regroupe 52 molécules car davantage de métabolites ont été inclus. Après optimisation de chaque étape analytique, les LDD et LDQ obtenues sont satisfaisantes puisque au minimum conformes à l'objectif fixé : de l'ordre du pg/mg dans les cheveux, et du µg/L dans le sang et l'urine.

La mise en œuvre de méthodes sensibles et performantes est indispensable dans un contexte de soumission chimique, puisque les résultats toxicologiques constituent un élément de preuve, contribuant à la manifestation de la vérité. Le toxicologue doit tout de même rester prudent lors de son interprétation afin d'aider au mieux la justice pénale à établir son verdict.

**MOTS-CLÉS :** soumission chimique, psychotropes, CL-SM/SM, cheveux

---

### **TITLE: Analytical strategy in the management of Drug-Facilitated Crime cases**

**ABSTRACT:** Since a decade, Drug Facilitated Crimes (DFC) has become an increasingly known phenomenon. It not only concerns sexual assaults but may affect anyone. Because of the amnesia caused by the involved drug, victims are often examined a long time after the events, complicating the diagnosis. The objective of this work was to contribute to the improvement of the toxicological documentation of DFC cases.

Two schemes have been established to “prioritize” analyzes to be performed on the basis of the clinical signs and the delay between the events and the samples achievement. Next, two complementary analytical methods have been developed on the same LC-MS/MS system, for the simultaneous research of the main substances used in DFC.

The first one enables the detection of 35 psychotropic drugs and metabolites in hair. The second, concerning blood and urine samples, covers 52 molecules because more metabolites have been included. After optimization of each analytical step, the LOD and LOQ obtained are satisfactory as they are at minimum consistent with the target: pg/mg range in hair, and µg/L in blood and urine.

The use of sensitive and efficient methods is essential in the DFC context, because toxicological results constitute evidence and contribute to the demonstration of truth. The toxicologist must still be cautious in his interpretation to give the best assistance he can to the criminal justice system to make a verdict.

**KEY-WORDS :** Drug Facilitated Crime, psychotropic drugs, LC-MS/MS, hair

---

### **INTITULÉ ET ADRESSE DU LABORATOIRE :**

Service de Pharmacologie, Toxicologie et Pharmacovigilance - CHU de Limoges  
2, avenue Martin Luther King 87042 Limoges Cedex

**Directeur de thèse : Dr Jean-michel GAULIER**