



Année Universitaire : 2009-2010

Master Sciences et Techniques : CMBA  
Chimie des Molécules Bio Actives



**MEMOIRE DE FIN D'ETUDES**  
Pour l'Obtention du Diplôme de Master Sciences et Techniques

**APPORT DU SCREENING TOXICOLOGIQUE PAR  
HPLC -BD LORS DES INTOXICATIONS  
MEDICAMENTEUSES**

Présenté par:

**BELAZIZ Dounia**

Encadré par:

**Pr. CHAKROUNE Said**

**Soutenu Le 24 Juin 2010 devant le jury composé de:**

- **Pr W. SQALI**
- **Pr M. IJJAALI**
- **Pr H. LHASSANI**
- **Pr S. CHAKROUNE**

**Stage effectué à : Centre Anti Poison du Maroc à Rabat**



---

Mémoire de fin d'études pour l'obtention du Diplôme de Master Sciences et Techniques

**Nom et prénom: BELAZIZ Dounia**

**Année Universitaire : 2009/2010**

**Titre: Apport Du Screening Toxicologique Par HPLC-Bd Lors des Intoxications Médicamenteuses**

### **Résumé**

L'objectif de l'étude a été de déterminer la place de la méthode screening par chromatographie liquide à haute performance couplée à barrette de diodes par rapport aux autres méthodes traditionnelles colorimétriques et immunologiques pour le diagnostic des intoxications médicamenteuses volontaires ou non.

La Toxicologie d'urgence associe la notion d'exploration d'un très vaste domaine de substances chimiques à la notion d'efficacité de prise en charge thérapeutique du sujet intoxiqué par médicament ou substance illicite en réanimation, même si le bilan biologique prime sur l'analyse toxicologique, il est apparu important de définir la place de celle-ci. Seule une collaboration étroite et continue entre clinicien et analyste permettra de coordonner les attentes de l'équipe médicale et les solutions apportées par le biologiste, dans la limite de ses capacités matérielles, humaines, techniques et économiques.

Les méthodes spectrophotométriques et immunologiques sont des méthodes de dépistage au champ d'application limité et dont l'intérêt est d'apporter rapidement une orientation sur l'origine de l'intoxication. Les méthodes séparatives associées à des outils de détection (UV, SM) sont le complément indispensable à l'identification des molécules responsables de l'intoxication. En dernière étape, l'analyse quantitative du produit toxique identifié peut faire appel à une méthode immunologique ou chromatographique.

L'utilisation du système HPLC-BD permet d'établir un screening toxicologique correspondant à la base de données de l'appareil. Ce constat permet de comprendre et d'encourager le développement de ces techniques dans le cadre de l'urgence. En effet, ces méthodes essentiellement chromatographiques sont capables de détecter et d'identifier un nombre important de xénobiotiques avec une grande sélectivité.

### **Mots clés:**

**Screening – intoxications médicamenteuses – HPLC-BD – méthodes traditionnelles de dépistage – toxicologie d'urgence.**



---

## DÉDICACES

### *A mes parents*

*En témoignage de mon grand amour et profonde reconnaissance*

*Pour vos immenses sacrifices consentis à mon éducation, mon bien être et mes études.*

*Puisse Dieu, le tout puissant, vous prêter la santé, la paix et le bonheur.*

### *A mes frères*

*En signe de l'affection que je ressens envers vous, je vous souhaite une vie pleine de succès et de bonheur.*

### *A mes professeurs*

*En signe de ma gratitude et le grand respect que je vous porte, je vous remercie, et je vous souhaite une vie pleine de réussite.*

### *A mes amis (es)*

*En souvenir des bons moments que nous avons passé ensemble*



---

## *LISTE DES ABREVIATIONS*

<b>CAPM</b>	: Centre Antipoison et Pharmacovigilane du Maroc
<b>CAPM-LAB</b>	: Laboratoire du Centre Antipoison et Pharmacovigilane du Maroc
<b>OMS</b>	: Organisation Mondiale de la Santé
<b>UMC</b>	: Uppsala Monitoring Centre
<b>ISO</b>	: Organisation Internationale de Normalisation
<b>HPLC/LCHP</b>	: Chromatographie Liquide à Haute Performance
<b>CPG</b>	: Chromatographie en Phase Gazeuse
<b>HPLC-BD</b>	: Chromatographie Liquide à Haute Performance couplée à une Barrette de Diodes
<b>DL</b>	: Dose Létale
<b>DE</b>	: Dose Efficace
<b>EMIT</b>	: Enzyme Multiplied Immuno assay Test
<b>FIA</b>	: Fluorescence Immuno Assay
<b>CCM</b>	: Chromatographie en Couche Mince
<b>GC-MS</b>	: Chromatographie en Couche Mince avec Spectrophotométrie de Masse
<b>EI</b>	: Etalon Interne
<b>MF</b>	: Match Factor (Facteur de concordance)
<b>BDZ</b>	: BenzoDiazépine
<b>AD</b>	: AntiDépresseur
<b>MET</b>	: Métabolite



---

## *Tableaux et figures*

### **TABLEAUX**

- Tableau I** : Comparaison des résultats de la méthode du screening toxicologique par HPLC-BD avec le tableau clinique du malade.
- Tableau II** : Cas de non concordance entre le tableau clinique et Le résultat du Screening par HPLC-BD
- Tableau III** : Comparaison des temps de rétention obtenus avec ceux en bibliothèque

### **FIGURES**

- FIGURE 1** : Schéma de la chaine HPLC-BD
- FIGURE 2** : Photo de la chaine HPLC-BD Agilent 1100 au CAPM-LAB
- FIGURE 3** : Chromatogramme et spectre d'Estazolam
- FIGURE 4** : Chromatogramme et spectre du Loflazépaté
- FIGURE 5** : Chromatogramme et spectre du Tétrazépam
- FIGURE 6** : Chromatogramme et spectre d'Imipramine
- FIGURE 7** : Chromatogramme et spectre d'Amineptine
- FIGURE 8** : Chromatogramme et spectre du Trimipramine
- FIGURE 9** : Chromatogramme et spectre du Propranolol



## *SOMMAIRE*

INTRODUCTION .....	1
PRESENTATION DU CENTRE ANTI POISON ET DE PHARMACOVIGILANCE DU MAROC .....	4
PARTIE I : toxicologie d'urgence .....	8
I. GENERALITES .....	9
1. La toxicologie .....	9
1.1. Classification des toxiques .....	9
1.2. Dose-réponse .....	10
2. Conduite à tenir devant une intoxication aiguë .....	11
3. Stratégies analytiques en toxicologie d'urgence .....	12
3.1 Diagnostic clinique des intoxications .....	12
3.1.1. Nature du toxique en cause .....	12
3.1.2. Circonstances de l'intoxication .....	13
3.1.3. Caractéristiques du patient .....	13
3.1.4. Délais et nature des symptômes .....	13
3.1.5. Dose toxique .....	14
3.2. Diagnostic biologique des intoxications .....	15
3.2.1. Milieux biologiques testés .....	15
3.2.2. Le prélèvement .....	16
3.2.3. Méthodes de recherche et de dosage .....	16
a) Méthodes de recherche .....	16
b) Méthodes de dosage .....	17
4. Démarche analytique en toxicologie d'urgence .....	18
4.1. Dépistage toxicologique .....	18
4.2. Screening toxicologique .....	18
5. Méthodes d'analyses utilisées au CAPM-LAB .....	19
5.1. Méthodes colorimétriques .....	19



---

5.2. Méthodes spectrométriques .....	20
5.3. Méthodes immunochimiques .....	20
5.4. Méthodes chromatographiques .....	20
• Chromatographie sur couche mince (CCM) .....	20
• Chromatographie liquide haute performance (CLHP) .....	21
• Chromatographie en phase gazeuse (CPG) .....	21
<b>II. Programme du travail .....</b>	<b>22</b>
1. Appareillage .....	22
2. Technique du screening toxicologique .....	22
<b>PARTIE II: MATERIELS ET METHODES .....</b>	<b>24</b>
<b>I. MATERIEL ET REACTIFS .....</b>	<b>25</b>
1. Matériel technique .....	25
2. Matériel biologique .....	25
3. Réactifs .....	25
<b>II. METHODES .....</b>	<b>26</b>
1. Préparation des réactifs .....	26
2. Mode opératoire .....	27
2.1. Protocole d'extraction .....	27
2.2. Protocole d'alimentation de la bibliothèque spectrale CAPM ....	27
3. Conditions chromatographiques .....	28
4. Interprétation des chromatogrammes .....	28
<b>RESULTATS .....</b>	<b>29</b>
<b>Résultats d'analyses de screening toxicologique par HPLC-BD .....</b>	<b>30</b>
<b>Résultats des injections des nouveaux standards effectuées dans le cadre du développement de la bibliothèque toxicologique du centre antipoison du Maroc (CAPM-LAB) .....</b>	<b>38</b>
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>48</b>
• Screening toxicologique réalisé chez les 40 patients .....	49



---

• Alimentation de la bibliothèque spectrale CAPM- LAB .....	49
ANNEXES .....	51
BIBLIOGRAPHIE .....	52





# INTRODUCTION



L'augmentation sans cesse évoquée du nombre des intoxications aiguës volontaires ou accidentelles; le plus souvent d'étiologie médicamenteuse, conduit les laboratoires d'analyses à la réalisation de plus en plus fréquente, dans les conditions et sous les contraintes de l'urgence, d'examens toxicologiques très variés en raison de la diversification des composés chimiques qui peuvent les motiver.

La prise en charge d'une intoxication grave par médicament ou par substance illicite en réanimation nécessite une coopération étroite entre l'analyste et le clinicien. En effet, le malade, son état clinique et son évolution constituent le sujet majeur de préoccupation pour l'équipe clinique. À partir de ces préoccupations, le clinicien exprime des besoins auprès de son laboratoire pour une réponse médicale adaptée à cette intoxication.

Le biologiste de son côté doit s'efforcer de répondre à ces demandes en fonction de ses possibilités (équipement, personnel, budget, analyse spécialisée ou rare). La mise en accord de ces contraintes est une nécessité première, elle doit permettre de formaliser des recommandations en matière de bonnes pratiques et d'établir des guidelines pour organiser de manière optimale la prise en charge médicale du malade. Le plus souvent dans l'intoxication grave par médicament ou par substance illicite, le ou les produits consommés sont connus, et la symptomatologie clinique observée correspond à celle qui est attendue, ce qui permet de limiter les examens complémentaires. Mais dans certains cas, la nature de la substance est ignorée ou elle n'explique pas le tableau clinique, l'analyse toxicologique peut s'avérer extrêmement utile.

L'échange entre le clinicien et l'analyste s'impose alors pour orienter les recherches. [1]

La toxicologie médicale a pour point commun l'étude et le traitement chez l'homme des effets toxiques liés à la pénétration dans l'organisme de substances étrangères (xénobiotiques). Cette définition illustre la multiplicité et la complexité de ses différents aspects liés à la variété des toxiques (médicaments, produits chimiques, plantes, venins. . .), des voies de pénétration, des types d'exposition (aiguë ou chronique), des modalités de l'intoxication (accidentelle ou volontaire), des symptômes qui peuvent concerner tous les organes et toutes les fonctions.

La toxicologie clinique concerne principalement les intoxications, en particulier aiguës, qui sont une cause fréquente d'admission dans les services de réanimation et d'urgences. Au cours des 20 dernières années le « paysage toxicologique » s'est profondément modifié. La nature des toxiques incriminés a évolué en fonction de l'introduction ou de la disparition de substances disponibles sur le marché mais aussi des changements dans les habitudes de prescription médicamenteuse.



Le diagnostic d'une intoxication médicamenteuse repose essentiellement sur l'anamnèse et les résultats de l'examen clinique, cependant l'analyse toxicologique garde toute sa place en cas de méconnaissance du médicament pris et/ou la présence de symptomatologie non spécifique.

Plusieurs techniques pour la recherche et/ou dosage de médicament ont été développées, notamment les testes colorimétriques, immunoenzymatiques et spectroscopiques, ces examens sont limités par leurs sensibilités et leurs spécificités.

Cette situation montre l'importance d'associer une méthode physicochimique du type CPG ou CLHP à l'approche immunologique classiquement utilisée.

La chromatographie liquide haute performance couplée à un détecteur à barrette de diode (CLHP-BD) est une des techniques alternatives disponible. Diverses configurations analytiques permettent de réaliser un screening par CLHP-BD.

L'intérêt d'une méthode de screening toxicologique par CLHP-BD s'avère déterminant dans deux types d'applications :

- Tout d'abord, le diagnostic des intoxications polymédicamenteuses:

Cette technique permet en une seule analyse d'identifier plusieurs composés ou molécules appartenant à des classes chimiques et médicamenteuses différentes.

- L'identification formelle de composés non reconnus par les tests immunochimiques constitue le deuxième apport déterminant de la CLHP-BD.

Cette technique est applicable à l'analyse des échantillons non biologiques (poudre, comprimés) parfois retrouvés auprès des patients intoxiqués et dont il est utile de connaître la composition. [3]



## **PRESENTATION DU CENTRE ANTI POISON ET DE PHARMACOVIGILANCE DU MAROC**

Le centre antipoison et de pharmacovigilance du Maroc (CAPM) a été créé en 1989. C'est un service d'utilité publique sous la tutelle du ministère de la santé, sa fonction principale est de :

- Délivrer l'information sur tout produit potentiellement toxique quelque soit son origine (médicament, plante, aliment, produit ménager, produits industriel...);
- Informer sur la conduite à tenir en cas d'intoxication ;
- Faire des analyses toxicologiques d'urgence et de suivi thérapeutique.

Grâce à un personnel médical et scientifique qualifié et à des banques de données informatisées sur les produits toxiques, les conseils donnés par le CAPM permettent :

- D'éviter l'encombrement des services des urgences ;
- Diminuer le coût et la durée d'hospitalisation en évitant les manœuvres intempestives.

Ce centre comporte plusieurs départements :

### **I.Information toxicologique**

Le centre dispose d'un service Téléphonique lancé en 1991 assuré par un médecin pharmacotoxicologue et fonctionne 24 heures sur 24 et 7 jours sur 7. C'est une unité médicale spécialisée qui consiste à délivrer l'information en réponse à une demande de renseignement en toxicologie, en pharmacologie ou à une situation d'intoxication. Elle donne des éléments de diagnostic, d'évaluation, de prise en charge thérapeutique et de pronostic (numéro de téléphone des urgences 0537686464 ; numéro économique 0801000180).

### **II.Pharmacovigilance**

La pharmacovigilance est une spécialité médicale ayant pour objet la détection, l'évaluation et la prévention des effets indésirables de tout produit de santé survenant dans une population.

Le centre national de pharmacovigilance est reconnu en 1992 comme le 34<sup>ème</sup> membre du centre collaborateur de l'OMS pour la surveillance des effets indésirables des médicaments (Uppsala Monitoring Centre : UMC).

Dans son fonctionnement quotidien, le centre doit assurer :



- 
- Le recueil exhaustif des déclarations d'effets indésirables médicamenteux qui lui sont communiqués par :
    - Les professionnels de santé (médecins, pharmaciens, chirurgiens, sages femmes et infirmiers) ;
    - Les centres régionaux de pharmacovigilance ;
    - Le centre antipoison ;
    - Les laboratoires fabriquant des produits de santé ;
    - Le public.
  - L'évaluation de la relation de cause à effet entre les produits de santé et les effets indésirables observés.
  - L'organisation d'une consultation spécialisée pour établir le diagnostic clinique et étiologique d'un effet indésirable chez un malade.
  - L'évaluation d'un système de gestion des données capable de générer les signaux et les alertes.
  - L'analyse et l'exploitation des données statistiques en vue d'évaluer la fréquence des effets indésirables ainsi que la morbidité qu'ils induisent.

### **III. Toxicovigilance**

La toxicovigilance est une spécialité médicale qui s'occupe de la détection, l'évaluation et la prévention des risques encourus par l'homme suite à un contact direct ou indirect par inhalation ou ingestion d'un agent toxique pouvant générer un effet nuisible.

Le département s'occupe de l'identification, l'évaluation et de la prévention des risques de toxicité existants dans une communauté pour les réduire ou les éliminer et ceci selon l'analyse des déclarations.

### **IV. Laboratoire**

Le laboratoire de toxicologie et de pharmacologie est fonctionnel depuis 1994. Il couvre les examens de toxicologie médicale ainsi que les dosages des médicaments pour le suivi thérapeutique des patients, son objectif est de :

- Confirmer, infirmer ou compléter un diagnostic d'intoxication ;



- Surveillance thérapeutique : dosage des médicaments pour assurer un meilleur traitement et pour l'adaptation de posologie.

Le laboratoire se compose de deux unités :

- Unité de pharmacologie : elle assure le dosage des médicaments chez les patients sous traitement chronique dans le but de :
  - Eviter les surdosages qui favorisent l'apparition d'effets indésirables médicamenteux et les sous dosages qui sont la cause d'échecs thérapeutiques.
  - Vérifier l'observance des patients au traitement.
- Unité de toxicologie : elle est spécialisée dans l'identification et le dosage des toxiques dans les liquides biologiques (sang, urine, liquide de lavage gastrique...).

Les techniques analytiques disponibles dans ce laboratoire permettent de couvrir les toxiques les plus fréquemment rencontrés au Maroc.

#### **V. Cellule de communication et d'information**

Afin de promouvoir ses travaux scientifiques et techniques et de favoriser leur utilisation, le CAPM s'est doté d'une cellule de communication information qui est chargée de :

- Promouvoir les prestations du CAPM et de s'occuper de l'organisation de colloques, conférences, séminaires, congrès...
- Contribuer à la promotion des activités du CAPM. Elle gère les documents et outils d'information du CAPM ;
- Faciliter les contacts internes et externes pour le personnel du centre.

#### **VI. Assurance qualité**

Il s'agit d'un département visant à installer une démarche qualité pour certifier la conformité du CAPM à un label de qualité internationalement reconnu : la norme ISO 9001 version 2000 pour les départements médicaux et ISO 17025 pour l'accréditation du laboratoire. Elle base son travail sur l'installation de procédures d'analyses, de gestion des ressources matérielles et humaines, de suivi de l'application et d'évaluation des actions pour garantir l'amélioration des prestations, de rendement à coût moindre et de satisfaction du client.





## *Objectif du travail*

L'objectif de l'étude est de déterminer la place de la méthode screening par chromatographie liquide à haute performance couplée à barrette de diodes par rapport aux autres méthodes traditionnelles colorimétriques et immunologiques pour le diagnostic des intoxications médicamenteuses volontaires ou non.

Le travail porte sur l'analyse de 38 prélèvements sanguins et urinaires reçus au CAPM-LAB durant 4mois, dont le but était de comparer le tableau clinique du malade avec le résultat obtenu par méthode screening, et de développer la bibliothèque spectrale du CAPM par introduction de nouveaux standards.





---

# **PARTIE I :** **TOXICOLOGIE D'URGENCE**



## I. GENERALITES

### 1. La toxicologie :

La toxicologie est la science des poisons. Elle étudie les substances exogènes (xénobiotiques) susceptibles d'exercer des effets délétères sur les organismes vivants et leur environnement. Son importance est liée au nombre sans cesse croissant de produits chimiques (produits industriels, pesticides...) et de nouveaux médicaments mis sur le marché. Les études de toxicité chez l'animal, permettent d'en proposer les mesures préventives appropriées (restriction d'emploi, utilisation en circuit fermé ...).

Plusieurs aspects de la toxicologie découlent de cette définition toxicologie descriptive dont l'objectif est la mise en évidence des effets adverses des xénobiotiques :

- toxicologie réglementaire visant à satisfaire aux exigences actuelles de l'évaluation du risque toxique
- toxicologie clinique et analytique cherchant les éléments du diagnostic positif et de la prise en charge des intoxications chez l'homme
- toxicologie explicative (« mécanistique ») dont le but est de comprendre les mécanismes responsables de ces effets adverses ou qui en favorisent l'apparition. En fait, nos connaissances des mécanismes sont très souvent fragmentaires.

#### 1.1. Classification des toxiques:

Il n'existe pas de classification universelle des toxiques. On peut proposer une classification basée sur :

- leur point d'impact (hépatotoxicité, immunotoxicité, génotoxicité ...)
- leurs modalités (médicaments, toxiques professionnels, toxiques environnementaux ...)
- leur mécanisme biochimique (poisons méthémoglobinisants, agents découplant ...).

Du point de vue de la toxicologie humaine, il est intéressant de distinguer les toxiques fonctionnels des toxiques lésionnels.

**Toxiques fonctionnels** : ils induisent une atteinte purement suspensive d'une fonction vitale (vigilance, respiration, hémodynamique ...), liée à leur présence à concentration suffisante au niveau des organes-cibles. Ces perturbations sont généralement réversibles et un traitement correctement conduit permet, s'il n'est pas trop tardif, une restitution adintegrum. Les progrès de la



réanimation ont considérablement amélioré le pronostic de ces intoxications. C'est le cas des comas barbituriques dont la létalité est passée de 30%, il y a trente ans, à moins de 1% aujourd'hui.

**Toxiques lésionnels** : ils provoquent des lésions irréversibles à l'échelon tissulaire, moléculaire ... ils sont à l'origine d'intoxications plus sévères, aiguës aussi bien que chroniques. Le traitement doit être aussi précoce et énergique que possible pour éliminer ces lésions.

### 1.2. Dose-réponse :

La plupart des effets toxiques obéissent à une courbe dose-réponse : plus on augmente la dose, plus la probabilité de voir apparaître un effet toxique s'accroît.

Chaque toxique se caractérise par sa propre courbe dose-réponse : plus la pente est forte, plus la toxicité est élevée.

Le concept de dose-réponse est largement utilisé en toxicologie expérimentale ; il est, par exemple, à la base de la notion de DL50 ou dose létale 50%. Il ne faut pas oublier qu'il s'agit d'une valeur statistique obtenue dans des conditions dont la reproductibilité n'est pas toujours irréprochable. La comparaison de la DL50 et de la DE50 (dose efficace 50%) permet d'estimer l'index thérapeutique d'un médicament.

Toutefois, la courbe dose-réponse pour un produit donné peut être variable, en fonction de l'organe, de la fonction ou du paramètre étudié; elle varie également selon l'individu, l'espèce... si elle constitue un reflet de la toxicité intrinsèque du produit en cause, elle doit donc toujours être modulée par l'analyse soigneuse des circonstances de l'intoxication.[4]



---

## 2. Conduite à tenir devant une intoxication aiguë

Le médecin doit toujours tenter d'identifier le toxique, mais il ne faut pas que cette recherche retarde les mesures thérapeutiques vitales. En effet, la plupart des poisons n'ont pas d'antidote spécifique. Le traitement symptomatique sera donc mis en œuvre d'après l'état clinique du malade et n'exige pas la connaissance précise de l'agent toxique en cause. Les intoxiqués sont parfois découverts dans des circonstances dramatiques.

Si l'on a affaire à un arrêt cardiaque, il faut exercer simultanément un massage cardiaque par voie externe et une assistance ventilatoire après intubation tandis qu'on alcalinise le patient.

Devant une détresse respiratoire aiguë, il faut assister la respiration après avoir extrait les prothèses dentaires : par une intubation et une ventilation en empêchant l'obstruction d'une sonde orale grâce à une canule de Guédel.

Devant un état de mal convulsif, la perméabilité des voies respiratoires doit être assurée à tout prix. Il faut donc intuber et ventiler au besoin sous Valium ou Rivotril par voie veineuse.

Le traitement des intoxiqués exige la connaissance à la fois des principes généraux de soins intensifs et des signes propres à chaque poison. Il comprend 3 stades :

La prévention de l'adsorption et l'évacuation du toxique,

L'administration éventuelle d'antidotes,

Le traitement symptomatique.

Les stades 1 et 3 concernent tous les toxiques; le stade 2 ne peut être envisagé que si le toxique en cause est reconnu et s'il existe un antidote spécifique. Le succès dépend de la précocité de la mise en œuvre du traitement ; si la clinique le demande, plusieurs étapes thérapeutiques seront menées de front.[5]



---

### 3. Stratégies analytiques en toxicologie d'urgence :

#### 3.1 Diagnostic clinique des intoxications

Le diagnostic d'une intoxication est un préalable à son traitement. Il est à la fois positif, différentiel et étiologique, et fait appel à l'anamnèse, à l'examen clinique et des données para-cliniques (biologiques le plus souvent, notamment analytiques, imagerie et exploration fonctionnelle parfois, histologie plus rarement). En pratique, cet ordonnancement est souvent pris en défaut par le contexte d'urgence et d'angoisse dans lequel surviennent les intoxications aiguës.

Un certain nombre d'éléments spécifiques, nécessaires et souvent suffisants, permettent une évaluation correcte de la situation et donc une prise en charge adéquate ; ce sont :

- \_ La nature exacte du produit auquel a été exposé le patient ;
- \_ Les circonstances de l'intoxication ;
- \_ Les caractéristiques du patient : âge, poids, antécédents ;
- \_ Les symptômes et leur délai d'apparition ;
- \_ La comparaison de la dose estimée à la dose toxique.

La connaissance de ces éléments et leur confrontation à la toxicité connue du ou des produits en cause, va permettre de déduire la conduite à tenir la mieux adaptée.

#### 3.2.1. Nature du toxique en cause

L'interrogatoire doit être méticuleux pour éviter de sous-estimer la gravité de l'intoxication ou à l'inverse de pratiquer des gestes inutiles et potentiellement iatrogènes.

**Lorsqu'il s'agit d'un médicament**, l'identification est relativement facile, qu'il s'agisse d'une prise volontaire ou accidentelle, mais les doses alléguées sont souvent mal définies :

- En cas de tentative de suicide, on est le plus souvent réduit à comptabiliser les emballages vides trouvés auprès du patient ; l'impossibilité ou le refus de répondre, d'éventuelles dissimulations, ne facilitent pas l'évaluation des doses et incitent à adopter une attitude thérapeutique maximaliste.
- En cas de prise accidentelle, notamment chez l'enfant, il ne faut pas hésiter à pousser l'entourage dans ses derniers retranchements ce qui peut permettre de découvrir les comprimés manquants sous un meuble plutôt que dans l'estomac de l'enfant....



Lorsqu'il s'agit d'un toxique non médicamenteux, l'identification est souvent plus difficile. Là encore, on s'attachera à déterminer le toxique en cause, mais également à quantifier l'exposition; le risque d'une inhalation de vapeurs corrosives est totalement différent selon qu'il s'agisse d'une ou deux bouffées, respirées en travaux pratiques de chimie dans un lycée, ou qu'il s'agisse d'un séjour prolongé dans une atmosphère contaminée en milieu industriel.

### 3.1.2. Circonstances de l'intoxication

Peu informative en matière de tentative de suicide, la description aussi fidèle que possible des circonstances exactes de l'intoxication est capitale pour en évaluer la gravité, en particulier en cas d'intoxication accidentelle chez l'enfant.

Un exemple illustratif est représenté par les poudres pour lave-vaisselle. Leur ingestion peut être grave et imposer une prise en charge précise si elle est importante ; en pratique, l'interrogatoire minutieux de l'entourage montre, le plus souvent, qu'il n'y a eu qu'un simple contact labial et /ou lingual, sans grande conséquence.

### 3.1.3. Caractéristiques du patient

\*L'âge doit être précisé, surtout aux deux extrémités de la vie

\*Le poids est un élément capital chez l'enfant, sans pour autant négliger la grande différence de corpulence entre une femme mince et un homme pléthorique.

\*Les antécédents peuvent représenter un facteur aggravant (antécédents convulsifs et prise de terpènes chez l'enfant, asthme et inhalation de substances irritantes ...). Ils doivent être pris en compte lors de l'interprétation de certains dosages (fumeur et taux sanguin de monoxyde de carbone).

### 3.1.4. Délais et nature des symptômes

L'examen clinique doit être systématique pour aboutir si possible à des regroupements symptomatiques évocateurs (syndrome cholinergique, ébrio-narcotique...). La symptomatologie doit être interprétée avec un esprit critique : en cas de discordance entre la clinique, la dose alléguée ou estimée et /ou les produits annoncés, la priorité doit revenir à la clinique car la preuve formelle de l'intoxication manque souvent (les résultats des dosages quand ils sont disponibles, sont souvent différés). Par exemple, la présence de signes atropiniques au cours d'une ingestion suicidaire de benzodiazépines doit faire évoquer et rechercher la prise associée d'antidépresseurs tricycliques et



conduire à une surveillance adaptée. Les mêmes remarques s'appliquent aux examens para-cliniques.

Le délai d'apparition des symptômes, même approximatif, doit être précisé. Pour la plupart des toxiques fonctionnels, les symptômes sont maximum entre la première et la quatrième heure. Ils sont habituellement retardés lorsqu'il s'agit d'un toxique lésionnel : cytolyse hépatique apparaissant au-delà de la 24<sup>ème</sup> heure après ingestion de paracétamol.

Le délai de prise en charge est également essentiel. Il permet d'apprécier l'aspect clinique en fonction du délai écoulé depuis l'ingestion ou l'inhalation. Lors de l'examen initial, l'état clinique réel du patient doit être confronté aux symptômes attendus en fonction de la dose alléguée, car les mesures thérapeutiques sont très différentes selon le stade évolutif.

### 3.1.5. Dose toxique

L'absence de définition de la dose toxique est source de difficultés. Il est habituel de comparer la dose estimée à la dose toxique de la littérature. Doit-on la considérer comme la dose à partir de laquelle le pronostic vital est en jeu ? ou celle imposant une prise en charge médicale ? ou celle au-delà de laquelle une évacuation digestive s'impose ? .....

Devant l'absence de consensus général, la dose toxique a été définie, comme la dose à partir de laquelle sont susceptibles d'apparaître des signes cliniques nécessitant, en pratique, une prise en charge médicale, sans qu'il s'agisse forcément de troubles graves.

Dans ce contexte, la dose toxique est une valeur moyenne, basée sur l'expérience, et qu'il faut savoir moduler en fonction de la susceptibilité individuelle, l'existence d'une pharmacodépendance (psychotropes, opiacés...), voire d'une exposition toxique antérieure. La dose toxique n'est donc pas une valeur arithmétique, mais tout au plus un repère chiffré orientant la prise en charge et le pronostic.

Au total, l'abord du patient admis avec le diagnostic d'intoxication n'est pas différent de celui d'un autre patient. Si les mesures symptomatiques immédiates sont souvent prioritaires, les éléments d'anamnèse ne doivent pas être négligés, car ils permettent de préciser un diagnostic, d'envisager un pronostic et de mettre en œuvre un traitement adapté.

## 3.2. Diagnostic biologique des intoxications

Le laboratoire de toxicologie apporte au clinicien une aide au diagnostic lors d'une intoxication. Ce rôle peut et doit, dans certains cas, être rapide : c'est un diagnostic d'urgence qui vient confirmer ou



infirmer une demande, plus ou moins orientée par l'anamnèse. Dans d'autres cas, il peut être utile à titre rétrospectif pour confirmer la prise d'un xénobiotique et éventuellement la quantifier.

### 3.2.1. Milieux biologiques testés :

Les milieux biologiques testés sont très divers : liquide gastrique, sang total, sérum ou plasma, urines. D'autres milieux peuvent être utilisés : air expiré, salive, sueur, liquide céphalorachidien, liquide d'hémodialyse ou de dialyse péritonéale... et, à titre médico-légal, divers organes.

- **le sang** doit être considéré comme un milieu biologique privilégié. La concentration sanguine des toxiques est en effet le plus souvent corrélée soit à un facteur de gravité, soit à un facteur pronostic. De plus, le prélèvement sanguin lors d'une admission ne pose généralement pas de problèmes.

- **les urines** restent indispensables pour :

- le dépistage des stupéfiants et des substances difficiles à doser dans le sang (paraquat, diquat, ...) ou facilement identifiables dans l'urine (carbamates, ...).
- la confirmation du ou des toxiques ingérés et l'identification de ses métabolites ce qui permet d'établir une première chronologie de l'intoxication.

- **le liquide gastrique** peut être très utile lorsque l'histoire clinique suggère une ingestion récente car il contient de grandes quantités de toxique non métabolisé. Son utilisation est de moins en moins fréquente du fait de son abandon progressif et de l'instauration d'un traitement au charbon.

- **autres types d'échantillons** impliqués dans l'intoxication peuvent aussi être analysés (liquide céphalorachidien, comprimés, sachets, ...).

### 3.2.2. Le prélèvement :





Pour effectuer des prélèvements et pour détecter les toxiques dans les liquides biologiques, le laboratoire doit tout d'abord disposer d'échantillons adéquats. Pour cela, quelques règles importantes doivent être respectées :

- Absence de toute contamination de l'échantillon lors du prélèvement par les solutions désinfectantes (alcool, produits iodés,..) ou autres (gel à la lidocaïne, ...).
- Choix des tubes spécifiques à certaines analyses
- Fermeture hermétique des tubes pour prévenir l'évaporation des substances volatiles et la contamination par les micro-organismes.
- Collecte suffisante d'échantillons à l'admission afin que des analyses rétrospectives restent possibles si l'évolution clinique les rend nécessaires (sérothèque, urothèque, ...)

### 3.2.3. Méthodes de recherche et de dosage :

Les techniques utilisables peuvent être réparties en deux groupes.

#### c) Méthodes de recherche :

Elles sont bien adaptées au diagnostic toxicologique d'urgence, mais peuvent manquer de spécificité et/ou de sensibilité. On distingue les techniques de mise en évidence d'un groupe de molécules et celles adaptées à une molécule spécifique.

- **Méthodes de mise en évidence d'un groupe de molécules :**

**La colorimétrie** peut être caractéristique d'un groupement fonctionnel d'une structure chimique donnée (noyau polycyclique). C'est une méthode volontaire employée pour le liquide gastrique et les urines. Le seuil de positivité est variable (faux négatifs) et la spécificité mise en défaut si la fonction chimique se retrouve dans le milieu testé, indépendamment de l'existence du toxique (faux positifs).

**La spectrophotométrie** est utilisable pour de nombreux milieux biologiques, surtout après extraction grossière des molécules suspectes. Ces techniques sont en principe plus spécifiques que les précédentes.

**Les immunodosages** sont proposés pour les médicaments et les stupéfiants. Adaptés à des automates, ils sont très pratiques dans le contexte de l'urgence ; ils utilisent un traceur enzymatique (EMIT) ou fluorimétrique (FIA). Les méthodes radio-immunologiques ne sont habituellement pas



utilisées en urgence. Les anticorps sont préparés contre une molécule spécifique du groupe. De ce fait, lors de la recherche, le seuil de réponse peut être variable selon la molécule du groupe qui est recherchée : des concentrations thérapeutiques peuvent donner des résultats positifs si la molécule réagit bien avec les anticorps utilisés ; inversement, si la molécule ne réagit que faiblement, des concentrations toxiques peuvent donner des résultats négatifs. La notion de réactivité de groupe est donc importante lors de l'interprétation du résultat.

- **Méthodes adaptées à une molécule donnée :**

Ce sont la colorimétrie, la spectrométrie, la chromatographie en couche mince (CCM). Cette dernière, d'utilisation plus ou moins facile, est adaptée à la recherche des toxiques après extraction sommaire en milieu acide ou basique. L'utilisation lors de l'étape de révélation de diverses réactions colorées permet l'identification du toxique.

**d) Méthodes de dosage :** On distingue deux grands groupes.

- **Techniques adaptées à l'urgence :**

Elles utilisent les principes de la colorimétrie, de la spectrophotométrie, de la fluorimétrie. Les immunodosages non radio-immunologiques, d'introduction plus récente, sont bien adaptés à l'urgence d'autant qu'ils sont disponibles sur des appareils automatisés. Il faut néanmoins en connaître les limites : possibilité de réactions croisées avec les métabolites, ayant ou non un potentiel toxique, taux surestimé dans le cas de composés réagissant avec l'anticorps utilisé (digoxinémie et substances endogènes « digoxin-like »).

- **Techniques d'utilisation différée :**

Leur plus grande difficulté de mise en œuvre n'en exclut pas l'intérêt, à titre rétrospectif ou lors du suivi d'une intoxication (toxicocinétique). Les techniques chromatographiques sont les plus courantes : chromatographie liquide haute performance (HPLC), chromatographie en phase gazeuse (CPG, parfois employée en urgence). Ces méthodes nécessitent un matériel particulier. L'évolution de l'informatisation et de l'électronique permettra sans doute à terme l'utilisation de l'HPLC comme technique de « semi-urgence ».

Enfin certaines méthodes nécessitent un matériel plus sophistiqué, telles que la spectrométrie d'adsorption et d'émission atomique pour le dosage des métaux, la spectrométrie de masse couplée



à la chromatographie en phase gazeuse (GC-MS), méthode de référence pour l'identification d'une molécule et la confirmation de la prise de stupéfiants ou de produits dopants.[6]

#### 4. Démarche analytique en toxicologie d'urgence

La stratégie analytique mise en place dépendra de l'équipement présent au sein du laboratoire.

##### 4.1. Dépistage toxicologique

En l'absence de méthodes séparatives, la démarche consiste à utiliser dans un premier temps des techniques qualitatives souvent peu spécifiques qui vont fournir en revanche des résultats présomptifs rapides et qui seront secondairement confirmés par des méthodes plus sophistiquées et plus spécifiques. Le principe du dépistage se définit comme une recherche rapide dans les milieux biologiques des toxiques les plus souvent impliqués dans l'épidémiologie locale. Il consiste ainsi à rechercher ou à exclure de manière systématique les toxiques par des méthodes analytiques simples et rapides. Ce type de dépistage tente de détecter une série de substances ciblées dans les trois milieux biologiques principaux : sang, urines et liquide gastrique et peut être envisagé en fonction des circonstances et de la présentation clinique (toxicomanie, ingestion médicamenteuse, ...)

##### 4.2. Screening toxicologique

Le progrès récent des méthodes séparatives se traduit par une utilisation plus aisée grâce à l'apport de l'informatique et à un coût d'investissement qui s'est considérablement réduit. Ce constat permet de comprendre et d'encourager le développement de ces techniques dans le cadre de l'urgence. En effet, ces méthodes essentiellement chromatographiques sont capables de détecter et d'identifier un nombre important de xénobiotiques avec une grande sélectivité. Elles font appel en général à la chromatographie sur couche mince, à la chromatographie liquide haute performance couplée à un détecteur de type barrettes de diodes ou balayage UV, automatique ou non, et à la chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse.

Après l'identification d'un toxique et chaque fois que cela sera nécessaire, la confirmation par une autre méthode sera quantitative afin de mieux documenter l'intoxication. Elle s'avère parfois nécessaire pour poser l'indication de traitements coûteux ou invasifs comme l'instauration :



- d'une hémodialyse (lithium, méthanol, éthylène glycol) ou d'une hémoperfusion (méprobamate, phénobarbital, théophylline)
- d'un traitement antidotique (paracétamol, méthanol, éthylène glycol, digitaliques)
- d'une diurèse forcée ou alcaline (salicylés, méprobamate)

L'approche analytique en toxicologie ne peut se réduire à une seule technique même séparative. Il est donc nécessaire de bâtir un algorithme suivant son équipement et la nature du prélèvement en tenant compte des priorités préalablement établies avec les services cliniques.[7]

## 5. Méthodes d'analyses utilisées au CAPM-LAB :

### 5.1. Méthodes colorimétriques

Ces méthodes consistent à obtenir des réactions colorées développées par des composés contenus dans l'échantillon au contact de certains réactifs. Elles sont dédiées dans le laboratoire CAPM à la recherche rapide de médicaments dans les liquides biologiques notamment les urines :

- **Salicylés** : La recherche des salicylés se fait grâce à la réaction de Trinder (développement d'une coloration violette en présence d'ions ferriques (la fonction phénol réagit avec le chlorure de fer)) dans l'urine (après hydrolyse dans ce dernier pour transformer l'acide acétylsalicylique en acide salicylique).

- **Phénothiazines** : La réaction de Forrest (développement d'une coloration rose fugace par le trichlorure de fer en milieu perchlorique due à la présence des insecticides) est une des seules réactions utilisables pour la mise en évidence des phénothiazines.

- Recherche de **l'imipramine** par la réaction au nitrite de sodium : une réaction positive se traduit par une apparition d'un anneau bleu-vert en présence de bichromate/ $H_2SO_4/HNO_3/HClO_4$ ).

Ces réactions colorimétriques sont rapides (résultat obtenu en moins d'une demie heure), ne sont pas chères, ne demandent pas beaucoup de technicité de la part du personnel, mais manquent de spécificité (risque de faux positifs) et de sensibilité (risque de faux négatifs).

### 5.2. Méthodes spectrométriques

Les méthodes spectrométriques peuvent aller de méthodes simples et pas chères (spectrophotomètres UV- Visible) à des méthodes beaucoup plus sophistiquées et onéreuses (absorption atomique, spectrométrie de masse). Le principe de base consiste à mesurer l'absorbance



d'une lumière monochromatique par les substances contenues dans l'échantillon. Le CAPM dispose de :

- **deux spectrophotomètres UV- Visible**

Utilisés pour le dosage des médicaments (salicylés, phénobarbital...), de la carboxyhémoglobine et de la méthémoglobine. Ces méthodes spectrométriques sont faciles, peu onéreuses mais sujettes aux interférences.

- **Un photomètre de flamme** utilisé pour le dosage du lithium

- **Un spectromètre d'absorption atomique** utilisé pour le dosage des métaux lourds notamment le plomb et le cadmium. C'est une méthode spécifique, sensible, qui permet la détection de traces mais reste de maintenance difficile.[8]

### 5.3. Méthodes immunochimiques

Les tests immunochimiques sont basés sur le principe de réactions antigène-anticorps. Au CAPM-LAB. Les anticorps utilisés sont spécifiques d'une classe pharmacologique et non d'une molécule. On dépiste, par ces méthodes, les barbituriques, les benzodiazépines, les antidépresseurs tricycliques et les stupéfiants urinaires tels que la cocaïne, le cannabis, les amphétamines et les opiacés. Ces tests sont rapides, peu onéreux, mais peu sensibles et peu spécifiques

### 5.4. Méthodes chromatographiques

Les méthodes chromatographiques consistent à séparer différentes substances en fonction de leurs propriétés physico-chimiques, et quantifier les produits séparés. Elles peuvent aller de méthodes simples (chromatographie sur couche mince) à des méthodes plus sophistiquées (chromatographie liquide haute performance et chromatographie en phase gazeuse).

- **Chromatographie sur couche mince (CCM)**

Il s'agit d'une technique économique de première intention où les molécules sont identifiées en fonction de leur position de migration et de leurs couleurs. Le produit est déposé sur une plaque recouverte de phase stationnaire (gel de silice...). La migration des produits est réalisée dans une chambre à développement au moyen d'un mélange de solvants appropriés (phase mobile). Cette technique permet au CAPM-Lab la détection des pesticides (organophosphorés, carbamates, organochlorés). Elle est facile de manipulation mais peu sensible et non quantitative.

- **Chromatographie liquide haute performance (CLHP):**

Dans la CLHP, une phase mobile constituée par un mélange de solvants, tamponnée ou non, de force ionique variable, traverse une colonne contenant la phase stationnaire. Les composants de



l'échantillon sont séparés après une étape d'extraction préalable, puis détectés à l'aide d'un détecteur spécifique (UV-Vis, UV-Vis à barrettes de diodes, fluorescence). Le signal obtenu permet aussi bien une analyse qualitative (identification) qu'une analyse quantitative. Le CAPM-LAB dispose de deux chromatographes liquides dont l'un est dédié au suivi thérapeutique des médicaments. Le deuxième chromatographe muni d'un détecteur à barrettes de diode est réservé au développement du screening des médicaments et des drogues illicites. La bibliothèque spectrale développée dans le cadre du screening toxicologique contient actuellement une cinquantaine de molécules.

- **Chromatographie en phase gazeuse (CPG)**

La CPG est une technique de séparation, réalisée sur une colonne contenant une phase stationnaire tandis qu'un flux de gaz vecteur réalise l'éluion des composés et les entraîne vers un détecteur. Chaque molécule se trouvera ainsi assignée d'un temps de rétention caractéristique et spécifique des conditions chromatographiques.

Le CAPM-LAB dispose d'un seul CPG utilisé pour l'analyse des pesticides (organophosphorés, carbamates). Ces deux dernières techniques sont très sensibles, très spécifiques mais demandent beaucoup de technicité de la part du personnel.[8]



## II. Programme du travail

Le travail consiste à :

- Comparer le tableau clinique du malade avec les résultats d'analyse par screening toxicologique.
- Développer la spectrothèque du CAPM-LAB par introduction de nouveaux standards.

### 1. Appareillage

Nous utilisons une chaîne HPLC Agilent 1100 couplée à un détecteur à barrette de diodes (HPLC-BD), pilotée par le Logiciel de « Chemstation » et possédant la bibliothèque Toxicologie. La colonne utilisée est une hypersil ODS C18, 5µm 100 x 2mm précédée d'une précolonne 20 x 2 mm. La phase mobile est un mélange tampon phosphate-acétonitrile dont les proportions varient selon un gradient et s'étalant sur une durée totale de 20 minutes. Le débit est de 0.4 ml/min. La séparation est effectuée au sein d'une enceinte thermostatée à 40°C.

L'appareil est constitué de :

- Bac à solvant ;
- Dégazeur à vide;
- Pompe quaternaire;
- Passeur automatique d'échantillons;
- Compartiment à colonne ;
- Détecteur UV à longueurs d'ondes variables.

Cet appareil est relié à un ordinateur ou est installé le logiciel de pilotage « Chemstation ».

### 2. Technique du screening toxicologique

Une extraction préalable à l'analyse chromatographique est nécessaire. Nous utilisons une extraction liquide-liquide avec un étalon interne qui est le prazépam (benzodiazépine).

L'extrait est injecté sur une colonne à phase inverse de HPLC pour la séparation par l'élution en gradient.

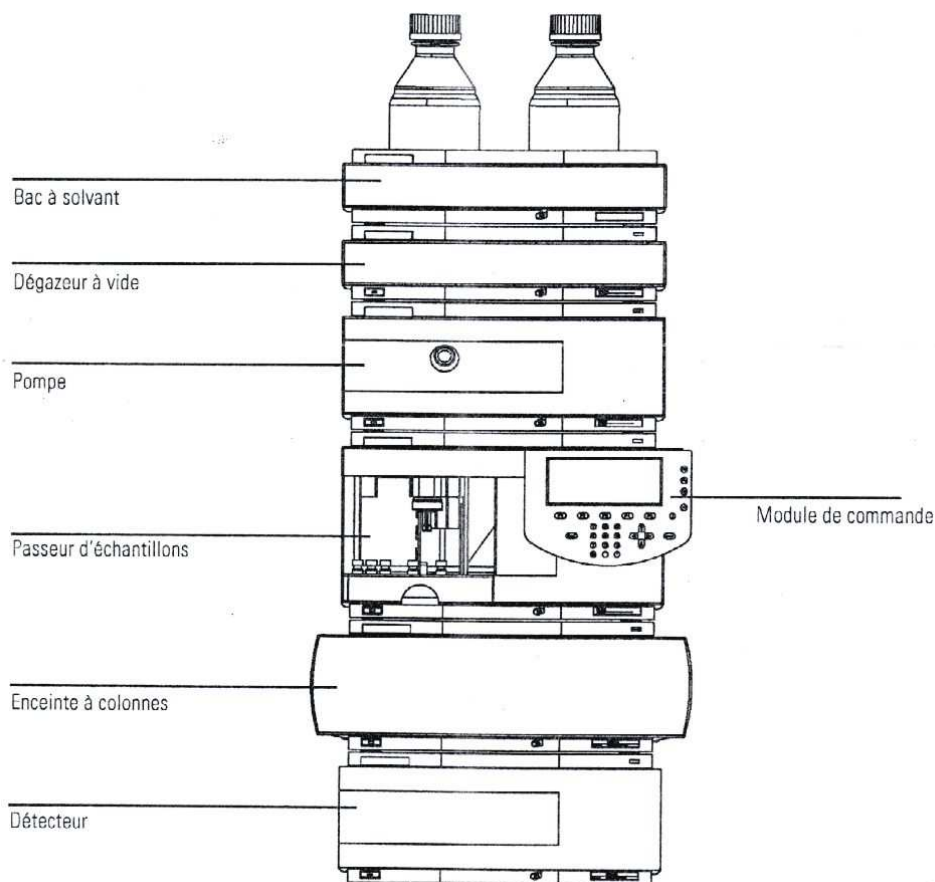


La spectrothèque du CAPM-LAB contient actuellement 50 spectres de référence correspondant à des molécules appartenant à des classes très diverses : psychotropes stupéfiants, antihistaminiques, anticoagulants, antibiotiques, antiparasitaires, bêtabloquants, antidiabétiques, antinéoplasiques, pesticides... Elle est évolutive et d'autres molécules peuvent être ajoutées à cette base.

L'identification s'effectue selon deux critères : le temps de rétention et le spectre ultraviolet.

Le logiciel « Chemstation » permet de vérifier la pureté des pics chromatographiques et de comparer les spectres inconnus avec ceux de la bibliothèque de spectres de référence.

**Figure1 : Schéma des composantes de l'appareil HPLC-BD**







---

# **PARTIE II : SCREENING TOXICOLOGIQUE**



---

## I. MATERIELS ET REACTIFS :

### 1. Matériel technique :

Un chromatographe liquide haute performance muni d'un détecteur UV a longueurs d'ondes variables (Chromatographe Agilent 1100 Serie, Colonne ODS 5 $\mu$ m 100 x 2 mm + précolonne 20 x 2 mm)

- Détecteur-intégrateur
- Agitateur horizontal
- Agitateur rotatif
- Centrifugeuse réfrigérée à 21°C
- Bloc chauffant à 50°C avec rampe d'azote pour évaporation
- Système d'aspiration sous vide
- Sonificateur
- pH-mètre
- Vortex

### 2. Matériel biologique :

Du sang veineux de 38 patients est prélevé sur des tubes à héparines ou EDTA. Le prélèvement doit être effectué dans les premières 24 heures après l'intoxication, centrifugé à 3000tr/min et le surnageant prélevé est conservé à 4 °C. 1 ml de plasma servira pour la réalisation du screening toxicologique.

L'urine des malades est également analysée par des méthodes colorimétriques, spectrométriques et enzymatiques. Les résultats obtenus par ces techniques sont comparés avec ceux du screening par HPLC-BD.

### 3. Réactifs :

- \*Eau pour HPLC
- \*Acétonitrile pour chromatographie
- \* Dichlorométhane pour analyses des résidus
- \* Méthanol pour analyses
- \* Dihydrogénophosphate de potassium ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) préparation de tampon
- \* Triéthylamine ( $\text{Et}_3\text{N}$ ) pour préparation du tampon



- \* Tampon phosphate
- \* HCl
- \* Hydroxyde de sodium (soude), ampoule Titrisol
- \*  $\text{Na}_2\text{CO}_3$
- \*  $\text{NaHCO}_3$
- \* Tampon carbonate
- \* Prazéпам 20mg/l
- \* Médicaments divers en produit pur (Propranolol, Tétrazéпам.....)

## II. METHODES

### 1. Préparation des réactifs :

#### \* Solution-mère de Prazéпам (0,5g/L) :

Dans une fiole jaugée de 20ml, on met :

10 mg Prazéпам en poudre et on remplit avec du méthanol jusqu'au trait.

#### \* Solution-fille de Prazéпам à 20 mg/L [solution Etalon Interne (EI)] :

Dans une fiole jaugée de 25ml on mélange :

1ml de la solution mère et on remplit jusqu'au trait avec du méthanol.

#### \* Solution-mère des médicaments (1g/L) :

Dans une fiole jaugée de 20ml on met :

10 mg de poudre (ou équivalent 10 mg, selon la forme sel) de chaque médicament ou substance, et on remplit avec du méthanol jusqu'au trait.

#### \* Tampon phosphate 1M :

Dans une éprouvette de 100ml, on met :

13,6 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  + 2,5 ml  $\text{Et}_3\text{N}$  et on ajoute l'eau déminéralisée jusqu'au trait.

#### \* Tampon carbonate pH 9.2, 0.25 M

- Solution (1)  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  1M : 10,6 g/100ml  $\text{H}_2\text{O}$  déminéralisée

- Solution (2)  $\text{NaHCO}_3$  1M : 8,4 g/100ml  $\text{H}_2\text{O}$  déminéralisée.



Dans une éprouvette de 100ml on met:

2ml de la solution(1) + 23ml de la solution (2), et on remplit avec 100ml d'eau déminéralisée.

\* Soude 1M : on dilue une ampoule Titrisol

- Solvant d'élution A : H<sub>2</sub>O déminéralisée
- Solvant d'élution B :

Dans une éprouvette de 500ml on met :

\*10ml du tampon phosphate et on remplit jusqu'au trait avec l'eau déminéralisée

- Solvant d'élution C : acétonitrile pour chromatographie

## 2. Mode opératoire

### 2.1. Protocole d'extraction :

Dans un tube de 25ml à bout rond et bouchon à vis (préalablement rincé tube-bouchon au dichlorométhane) on mesure :

- \* 50 µl de solution fille de prazépame
- \* 1ml de plasma
- \* 60µl de soude 1M (+ 500µl carbonate 0,25M si urine) - Mélangé
- \* 10ml de dichlorométhane (distributeur)

- on bouche les tubes et on s'assure de l'absence de fuite.
- on agite 15 min à l'agitateur mécanique (vitesse9).
- on récupère dans des tubes de 30ml
- on centrifuge pendant 10min à 3000tr/min
- on aspire la phase aqueuse surnageante à la trompe à vide équipée d'une pointe jaune.
- on transvase délicatement la phase organique dans un tube de 25ml
- on évapore à 50°C sous azote
- on Laisse refroidir.
- on reprend le résidu sec par 100µl de méthanol pour chromatographie et on agite pendant 1 min au vortex.
- on ajoute 40 µl H<sub>2</sub>O et on agite 30 secondes.
- on met tout le volume dans des vials pour injection.



## 2.2. Protocole d'alimentation de la bibliothèque spectrale CAPM :

- Les solutions mères des standards (médicaments) à 0.5g/l sont obtenues par dissolution de 10mg de poudre dans des fioles jaugées de 20ml avec du méthanol.
- Pour préparer les solutions filles à 20mg/l, on prend 1ml de la solution mère de chaque médicament en fiole jaugée de 25ml et on remplit jusqu'au trait par du méthanol.
- on met un petit volume de chaque solution fille dans des vials pour injection.

## 3. Conditions chromatographiques

- La phase stationnaire: Colonne ODS 5 $\mu$ m 100 x 2 mm + précolonne 20 x 2 mm).
- La phase mobile : Tampon Phosphate 85% +Acetonitrile 15%.
- Longueur d'onde de détection : UV= 210nm, 230nm et 254nm
- Débit de la phase mobile : 0.4 ml/min
- Volume d'injection : 10  $\mu$ l
- Température : 40°C

## 4. Interprétation des chromatogrammes :

- Les chromatogrammes de chaque analyse sont obtenus et enregistrés pour les trois longueurs d'ondes utilisées : 210,230 et 254 nm.
- Chaque pic du chromatogramme est caractérisé par son temps de rétention et son spectre UV. Qui permettent son identification dans la bibliothèque spectrale angevine.
- Le Logiciel Chemstation permet la détermination de la concordance du spectre élué à son homologue en bibliothèque qui est évaluée par le match factor et la concordance entre les molécules est acceptée à une valeur supérieure ou égale à 990/1000.
- les pics non identifiés sont expliqués soit par le temps de rétention qui est trop différent de celui en mémoire, soit le pic est "impur" ou la substance n'est pas référencée en bibliothèque.

**Figure 2 : Photo de la chaine HPLC-BD Agilent 1100 au CAPM**





# RESULTATS



Notre étude a été faite sur 38 patients d'âge, sexe et état clinique différents.

Le plasma du sang centrifugé est utilisé pour le screening toxicologique par HPLC-BD. Les urines ont servi pour les analyses colorimétriques, enzymatiques et spectrophotométriques.

Pour remplir le tableau clinique du malade, des informations ont été recueillies et inscrites sur une fiche de patient.

### **I. Résultats d'analyses de screening toxicologique par HPLC-BD :**

Sur les 38 cas reçus, 8 n'ont pas été traités par les méthodes colorimétriques et/ou enzymatiques parce que nous n'avons pas reçu d'urines.

Nous avons effectué un screening toxicologique par HPLC-BD sur les plasmas des 38 patients dont on connaît le tableau clinique. Les résultats obtenus pour 29 cas ont montré une bonne corrélation entre Le Screening toxicologique et le tableau clinique du patient (Tableau I).

La non concordance a été notée dans 9 cas qui sont représentés par Tableau II.



**Tableau I : Comparaison des résultats de la méthode du screening toxicologique par HPLC-BD avec le tableau clinique du malade.**

Cas	Etat clinique	Méthodes colorimétriques, enzymatiques et spectrophotométriques	Screening par HPLC-BD		
			Molécules identifiées	Temps de rétention	MF*
1	Intoxication médicamenteuse	Salicylés=N Phénothiazines=N Imipramines=N Benzodiazépines=N Barbituriques=N	Amineptine Febarbamate Prazepam	9.51 10.07 11.63	988.35 986.75 995.97
2	Trouble de conscience Vomissement	----	Barbital Atropine	2.10 2.31	998.32 979.24
3	Trouble de conscience non comateux	Salicylés=N Phénothiazines=N Imipramines=N Benzodiazépines =N cannabis=N Morphine=N	Met cafedrine Midazolam	1.44 9.69	993.32 996.990
4	Trouble de conscience apyrétique	Salicylés=N Imipramines=N Phénothiazines=N Benzodiazepines=N Cannabis=N Morphine=N Barbituriques=N OrganoPhosphorés=N carbammates=N	Met3 tétrazepam Phénobarbital	8.08 5.59	981.88 994.64
5	Refus de tête hypotonique	Salicylés=N Imipramines=N Phénothiazines=N Benzodiazepines=N	Met cafedrine OH alpa Diazepam	1.29 1.80 11.30	993.87 982 993.97
6	Convulsion apyrétique	----	Met cafedrine Temazepam Met 3 tetrazepam	1.29 7.35 7.65	993.99 997.53 988.52
7	Coma calme	Salicylés=N Phénothiazines=N Imipramines=N	Met cafedrine Oxazepam Temazepam	1.34 7.88 8.94	986.91 996.92 997.39





		Benzodiazépines= Positif	Prazepam	11.62	997.81
8	Etat de mal convulsif	Salicylés=N Imipramines=N Phénothiazines=N Benzodiazépines=N Cannabis=N Morphine=N	Met 3 tetrazepam Prazepam	6.78 11.62	992.32 996.74
9	Intoxication aux benzodiazépines	Benzodiazépines=P Barbituriques=N	Bromazepam Prazepam	6.78	982.11 993.90
10	Intoxication takaout	Benzodiazépines =N Cannabis=N Morphine=N PPD=N	Nefopam	7.57	994.21
11	Désorientation temporo-spaciale	Benzodiazépines =P	Temazepam	8.04	990.12
12	Conscience altérée	Salicylés=N Phénothiazines=N Imipramines=N Benzodiazépines =N	Screening négatif		
13	Trouble de conscience	----	Dihydan	7.38	992.39
14	Eruption fébrile Intoxication médicamenteuse	Salicylés=N Imipramines=N Phénothiazines=N Benzodiazépines =N	Diazepam	11.29	991.30
15	Intox. Alimentaire	Salicylés=N Imipramines=N Phénothiazines=N Benzodiazépines =N Cannabis=N Organophosphorés=N carbamates=N	Screening négatif		
16	Odème de quincke	Salicylés=N Imipramines=N Phénothiazines=N Benzodiazépines =N Cannabis=N	Pimozide (N)	14.22	989.73



		Morphine=N Organophosphorés=N carbamates=N			
17	Syndrome méningé céphalée Vomissement	Salicylés=N Imipramines=N Phénothiazines=N Benzodiazépines =N Cannabis=N Morphine=N OrganoPhosphorés=N carbamates=N	Screening négatif		
18	Hépatite médicamenteuse	Salicylés=N Phénothiazines=N Imipramines=N Benzodiazépines =N	Screening négatif		
19	Désorientation temporo-spaciale	----	NDD diazepam	9.77	982.98
20	Trouble de conscience	-----	Di OH Oxacarbabazépine Met6 Clotiazéпам	4.63 11.32	978.82 967.52
21	Détresse respiratoire	Salicylés=N Phénothiazines=N Imipramines=N Benzodiazépines =N Cannabis=P Morphine=N	Screening négatif		
22	Altération de l'état générale	Salicylés=N Phénothiazines=N Imipramines=N Benzodiazépines =P carbamates=N Morphine=N	Met mépivacaine Lorazéпам Témazepam	4.69 8.70 9.78	994.49 996.60 989.56
23	Intoxication à Atropine	Salicylés=P Phénothiazines=N Imipramines=N Benzodiazépines =N	Screening négatif		



24	Troubles digestives	Salicylés=N Phénothiazines=N Imipramines=N Benzodiazépines =N Cannabis=N Organophosphoré=N carbamates=douteux	Screening négatif		
25	Trouble de Mal convulsif	Salicylés=N Phénothiazines=N Imipramines=N Benzodiazépines =N Morphine=P	Screening négatif		
26	Altération de l'état de conscience	Salicylés=N Phénothiazines=N Imipramines=N Benzodiazépines =N Morphine=N Cannabis=N OrganoPhosphorés=N carbamates=N	Témazepam Met mépivacaine (AN)	9.60 4.52	992.95 994.80
27	Trouble de conscience	Salicylés=N Phénothiazines=N Imipramines=N Benzodiazépines =N Morphine=N Cannabis=N Organophosphorés=N carbamates=N	Screening négatif		
28	Trouble de la vision	Salicylés=N Phénothiazines=N Imipramines=N Benzodiazepine=N Morphine=N	Benzoctanine	14.09	986.18



29	Fatigue générale	Salicylés=P Phénothiazines=N Imipramines=N Benzodiazépines =N Morphine=N Organophosphorés=N carbamates=N	Met2 zolpidem	7.99	999.06
30	Trouble de conscience	Salicylés=N Phénothiazines=N Imipramine=N Benzodiazépines =N OrganoPhosphorés=N carbamates=N	Difebarbamate Met1 naproxène	14.31 12.09	995.42 950.48
31	Trouble de conscience	Salicylés=N Phénothiazines=N Imipramine=N Benzodiazépines =N Organophosphorés=N carbamates=N	Bralabarbital OH carbamazépine	4.51 5.19	990.47 998.75
32	Epilepsie	----	Heptabarbital oxacarbamazepine	6.74 4.46	997.71 991.41
33	Coma calme	Salicylés=N Phénothiazines=N Imipramine=N Benzodiazépines =N	NDM diazepam OH Triaz	9.76 10.09	996.32 998.75
34	Trouble de conscience	----	Screening négatif		
35	Trouble de la thermorégulation	Salicylés=N Phénothiazines=N Imipramines=N Benzodiazépines =P Paracétamol=81mg	Ac mefenamique Theophylline	7.06 1.17	982.65 988.69
36	Ingestion des antiinflammatoires	Salicylés=N Phénothiazines=N Imipramines=N Benzodiazépines =N	Met cafedrine Prednisolone	1.42 6.91	995.93 996.64



		Morphine=N			
37	Intoxication médicamenteuse	Salicylés=N Phénothiazines=N Imipramines=N Benzodiazépines =N carbamates=N	Met cafedrine Thiopental	1.38 8.78	994.46 978.18
38	Etat de choc	----	Screening négatif		

(\*) = pourcentage de concordance des spectres retenus avec ceux de la bibliothèque spectrale.

(---) = Analyse non faite (manque d'urine) ; (N)= négatif ; (P)= positif



**Tableau II : Cas de non concordance entre le tableau clinique et  
Le résultat du Screening par HPLC-BD**

Cas	Tableau clinique	Résultat du screening par HPLC-BD
10	Intoxication takaout	Nefopam
12	Conscience altérée	Screening négatif
16	Oedème de quincke	Pimozide
17	Syndrome méningé céphalée Vomissement	Screening négatif
18	Hépatite médicamenteuse	Screening négatif
23	Intoxication à Atropine	Screening négatif
25	Trouble de Mal convulsif	Screening négatif
27	Trouble de conscience	Screening négatif
34	Trouble de conscience	Screening négatif

**Remarque :**

D'après ces résultats on constate que la plupart de ces intoxications sont dues aux benzodiazépines ou aux antidépresseurs.

Les benzodiazépines (BDZ) sont les médicaments psychotropes les plus prescrits. La banalisation de leur usage explique que ces molécules sont le plus souvent recherchées dans les tentatives d'autolyse et que les laboratoires de toxicologie sont quotidiennement confrontés à leur mise en évidence dans les milieux biologiques, sang et/ou urine.

L'analyse toxicologique peut permettre d'affirmer ou d'infirmer que l'état clinique du malade est lié à ce type d'intoxication. La recherche de cette classe de médicaments au moyen d'une méthode immunologique simple et rapide est quasi systématiquement utilisée. Celle-ci peut éventuellement être confirmée par une recherche impliquant des techniques chromatographiques.

En l'absence d'association avec d'autres toxiques, la phase initiale de l'intoxication aiguë par les BDZ se traduit par des troubles du comportement avec agitation, d'inhibition, agressivité et ébriété. Dans presque tous les cas, on constate une amnésie antérograde. La survenue de ces troubles est d'autant plus précoce que la molécule est douée d'effet hypnotique.

Dans les heures qui suivent l'intoxication, une dépression du système nerveux central peut apparaître avec hypotonie musculaire, et somnolence pouvant aboutir à un état de coma calme. La dépression respiratoire est le plus souvent modérée et s'observe principalement chez l'enfant. [10]

Le pronostic d'une intoxication aiguë exclusive par ces médicaments est généralement favorable et le décès exceptionnel. Cependant, la symptomatologie peut être beaucoup plus sévère lorsque la



---

quantité ingérée est massive ou en cas d'antécédents médicaux (insuffisance rénale chronique, insuffisance hépatique et surtout insuffisance respiratoire).

Autres que les benzodiazépines les antidépresseurs sont aussi parmi des médicaments les plus prescrits. Dans les cas des dépressions, ils agissent électivement sur l'humeur « douloureuse » en inversant l'humeur triste en euphorie pathologique. Les antidépresseurs font partie du groupe des psychoanaleptiques ou stimulants psychiques.

Les antidépresseurs ont des indications thérapeutiques en psychiatrie comme les attaques de panique, l'anxiété, la phobie sociale, le stress post-traumatique et bien d'autres. [11][12]

**La prévalence des intoxications par les benzodiazépine et antidépresseurs, a défini notre choix pour les nouveaux standards à introduire dans la bibliothèque du CAPM-LAB.**



---

## II. Résultats des injections des nouveaux standards effectuées dans le cadre du développement de la bibliothèque toxicologique du centre antipoison du Maroc (CAPM-LAB):

Dans notre étude, nous avons introduit 8 nouveaux standards dans la bibliothèque CAPM-LAB qui sont l'Amineptine, la Cimétidine, le Tetrazépam, le Propranolol, l'Estazolam, le Loflazépaté, la Trimipramine et l'Imipramine.

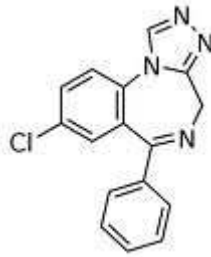
Le chromatogramme de chaque médicament représente des pics correspondant aux substances qui sont acheminées par la phase mobile dans la phase stationnaire (colonne), éluées et détectées par un détecteur à barrette diodes aux longueurs d'onde 210, 230 et 254nm.

Le logiciel « Chemstation » permet de vérifier et de comparer les spectres inconnus avec ceux de la bibliothèque de spectres de référence.

L'identification du médicament s'effectue selon deux critères : le temps de rétention et le spectre ultraviolet. Les résultats de ces identifications sont représentés par les figures ci-dessous :



## 1. ESTAZOLAM



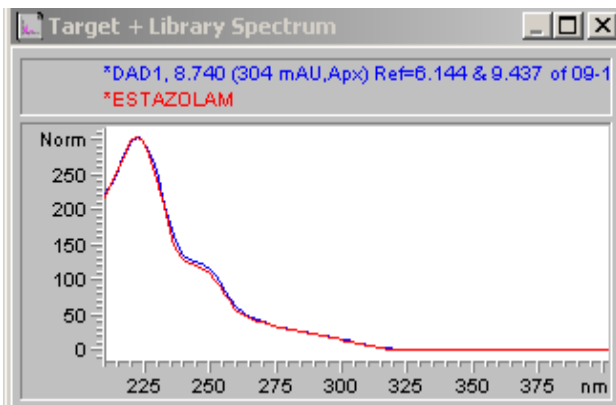
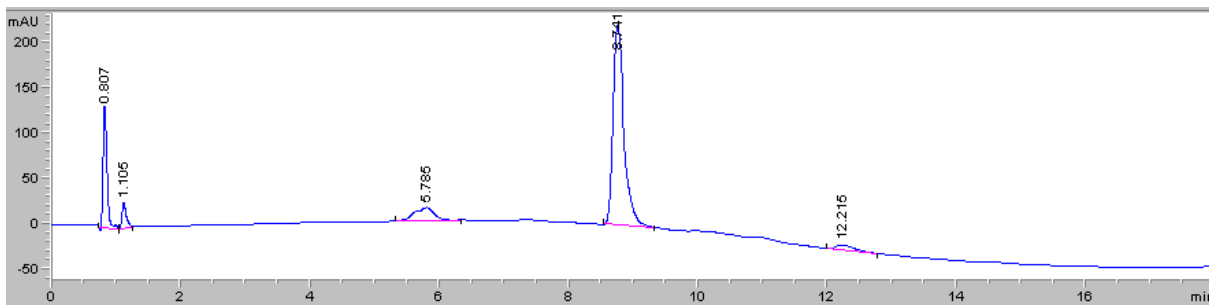
C'est la Triazolobenzodiazépine (8-chloro-6-phényl-4H-1, 2,4-triazolo [4,3-a]-1,4-benzodiazépine

chloro-6-phényl-4H-1, 2,4-triazolo

Appartient à la famille des benzodiazépines hypnotiques

A des activités sédatives, anxiolytiques et anticonvulsivantes, et myorelaxant. [15]

Figure 3 : Spectre et Chromatogramme de l'Estazolam

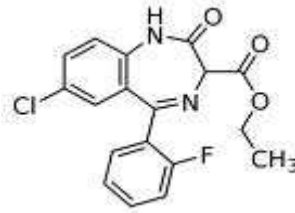


#	Match	Entry	Time	Name
1	999.644	592	8.18	OH ALPRA
2	999.153	42	9.02	ESTAZOLAM
3	998.598	292	7.46	MET ESTAZOLAM
4	996.008	43	9.17	ALPRAZOLAM
5	983.479	594	8.45	OH TRIAZ

L'Estazolam est identifié par un spectre et un temps de rétention bien concordants avec ceux en bibliothèque spectrale angevine : le temps de rétention du pic du médicament sur le chromatogramme est 8.74min, celui en bibliothèque 8.18min et le facteur match est de 999.644.



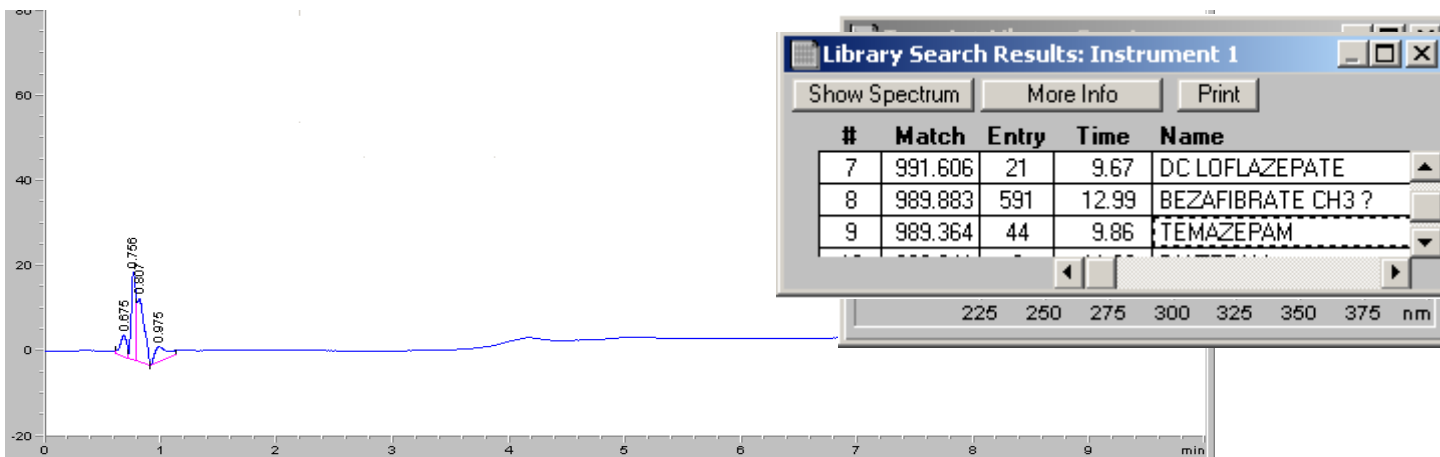
## 2. LOFLAZEPATE



C'est le chloro-7 (fluoro-2 phenyl)-5 oxo-2 dihydro-2,3 1h-benzodiazepine-1,4 carboxylate-3 d'ethyle. Une Benzodiazépine Fluor dérivé.

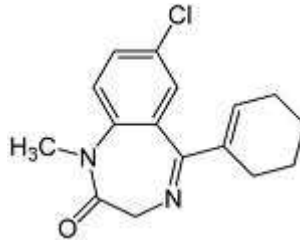
Produit lui-même inactif, mais qui donne naissance à des métabolites actifs dont le mécanisme est identique au ESTAZOLAM, c'est à dire agoniste du récepteur aux Benzodiazépines, c'est un psycholeptique; Tranquillisant ; Sédatif ; Myorelaxant et Anticonvulsivant.[16]

Figure 4 : Spectre et Chromatogramme du Loflazébate



Le DC Loflazébate, métabolite de Loflazébate est élué avec un temps de rétention de 8.30min, temps proche de celui en bibliothèque (9.67min). Le pourcentage de concordance entre les spectres est 991.606.

### 3. TETRAZEPAM



C'est le (7-Chloro-5-(cyclohex-  
benzodiazepin-2-one)

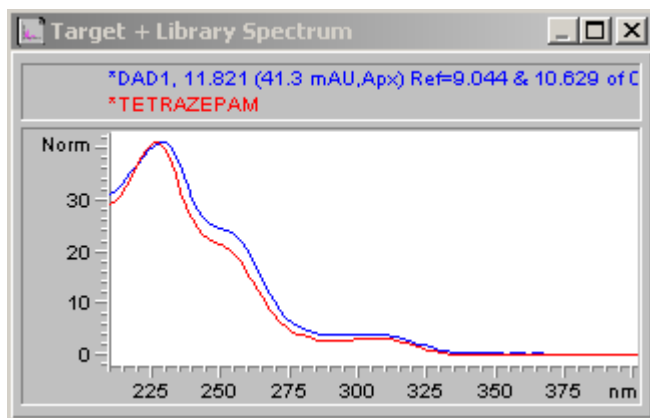
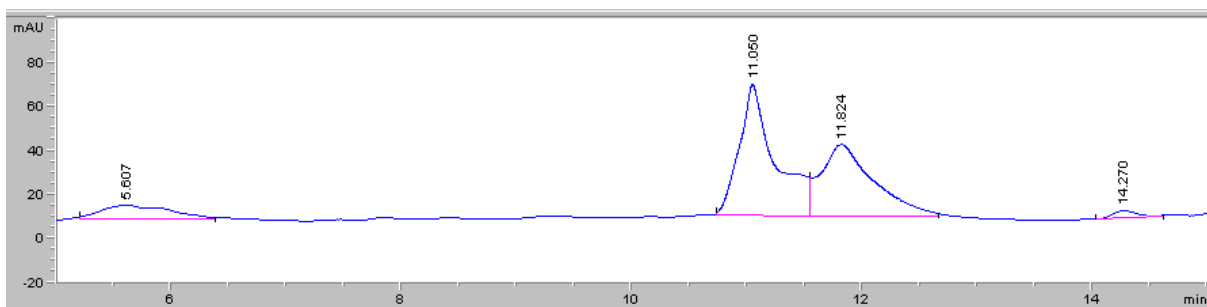
1-enyl)-1,3-dihydro-1-méthyl-2H-1,4-

Le Tétrazépam appartient à la classe des 1-4 benzodiazépines, il a une activité pharmacodynamique qualitativement semblable à celle des autres composés de cette classe.

C'est un myorelaxant (relaxant musculaire) agit sur le système nerveux en diminuant la tonicité musculaire.

(Anxiolytique, sédative, hypnotique, anticonvulsivant, amnésiant). [11][12]

Figure 5 : Spectre et Chromatogramme du Tétrazépam



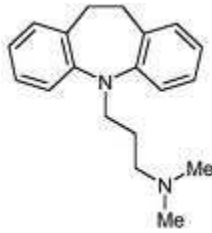
Library Search Results: Instrument 1

Show Spectrum More Info Print

#	Match	Entry	Time	Name
1	990.995	17	12.70	TETRAZEPAM
2	989.982	3	11.20	DIAZEPAM
3	989.178	44	9.86	TEMAZEPAM
4	981.959	4	13.20	PRAZEPAM
5	977.707	2	10.00	NDM DIAZEPAM
6	969.535	521	12.28	MFT1 TETRΔ7FPΔM

Le chromatogramme du Tétrazépam montre que le pic du médicament sort à 11,82min, temps proche de celui en bibliothèque (12.70min). Le spectre est également concordant avec celui enregistré avec un facteur match de 990,995.

#### 4. IMIPRAMINE



C'est le chlorhydrate de 5-dibenz[b,f]azépine,

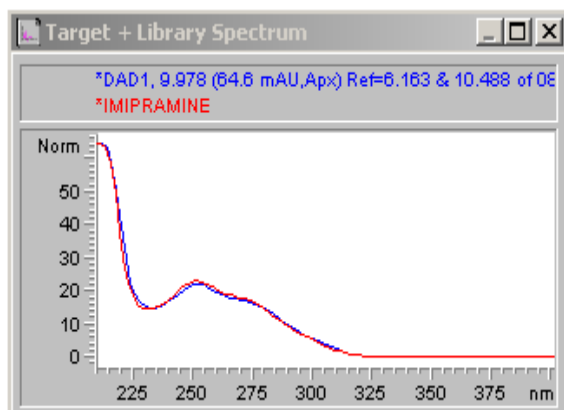
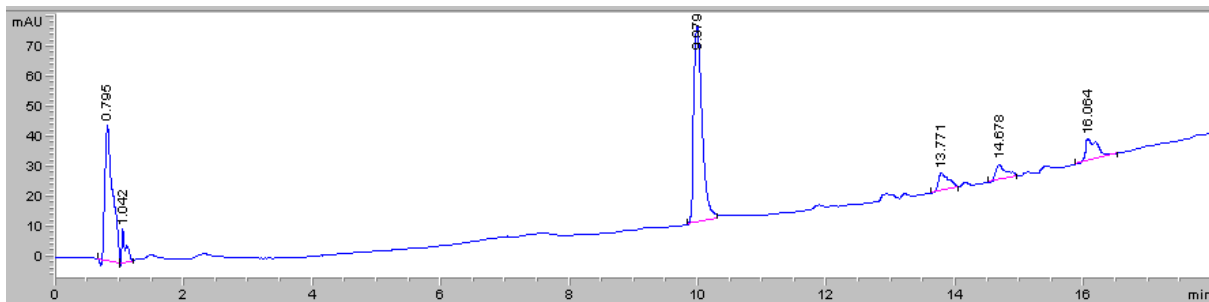
(3-diméthylaminopropyl)-10,11-dihydro-5H-

L'Imipramine appartient aux classes des Amines tricycliques et Dibenzazépine.

Les mécanismes de l'action de l'imipramine portent sur les systèmes adrénergique, cholinergique, sérotoninergique et sur l'activité des hydroxylases hépatiques.

Il a un rôle psychoanaleptique, antihistaminique ; antidépresseur tricyclique et thymoanaleptique.[14]

Figure 6 : Spectre et Chromatogramme de l'Imipramine



Library Search Results: Instrument 1

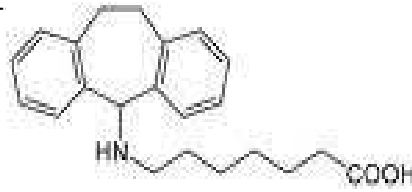
Show Spectrum More Info Print

#	Match	Entry	Time	Name
1	995.250	172	9.90	IMIPRAMINE
2	945.132	205	10.18	METAPRAMINE
3	912.700	213	10.20	NDM CLOMIPRAMINE
4	911.402	275	9.26	DOXYLAMINE ?
5	858.781	154	9.10	PROPAFENONE

L'Imipramine est élué avec un temps de rétention de 9.97 min, temps proche de celui en bibliothèque (9.90min) et une concordance spectrale bien défini. Le pourcentage de concordance entre les deux spectres est 995.250



## 5. AMINEPTINE

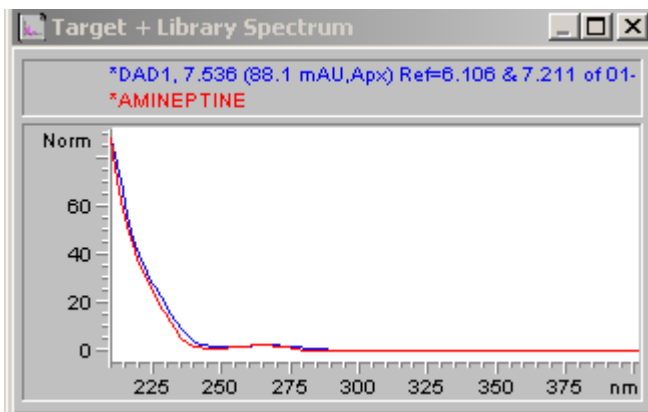
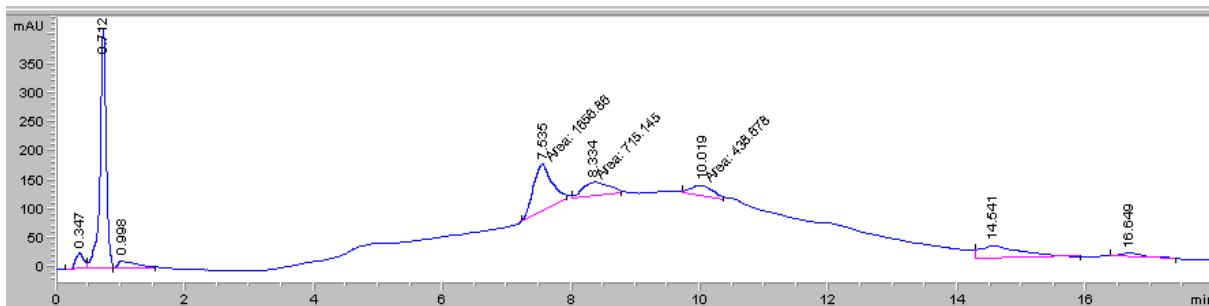


L'Amineptine (acide 7-[10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cyclohepten-5-yl)amino] heptanoïque) est un antidépresseur tricyclique de synthèse atypique, ayant des effets stimulants sur le système nerveux central.

C'est un agoniste dopaminergique indirect, qui inhibe sélectivement la fixation de la dopamine et induit une libération de cette dernière, avec stimulation complémentaire du système adrénergique.

Ses effets antidépresseurs sont analogues à ceux d'autres antidépresseurs tricycliques, mais l'Amineptine a une action plus rapide est mieux tolérée et a peu d'effets cardio-vasculaires.[16]

Figure 7 : Spectre et Chromatogramme de l'Amineptine

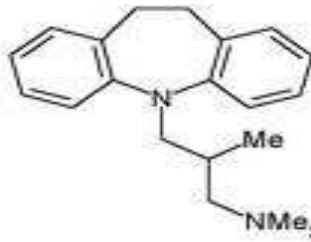


#	Match	Entry	Time	Name
1	996.991	121	7.81	AMINEPTINE
2	988.698	113	7.78	DIHYDAN
3	986.310	702	7.73	RAMIPRIL
4	985.944	370	7.00	VALPROMIDE
5	978.848	174	7.30	HEPTABARBITAL
6	976.487	579	8.01	NEFOPAM
7	973.530	159	8.18	REPOSAL

Le spectre obtenu par l'Amineptine dans notre étude est bien superposé à celui du même médicament enregistré dans la bibliothèque spectrale d'Anger (Toxicol.uvl) et avec un pourcentage ou facteur match supérieur à 990.

Le temps de rétention que nous avons trouvé pour l'Amineptine (7.53min) est également proche de celui en bibliothèque (7.81min) avec un facteur match de 996.991.

## 6. TRIMIPRAMIN



C'est le 5-[3-(diméthylamino)-2-

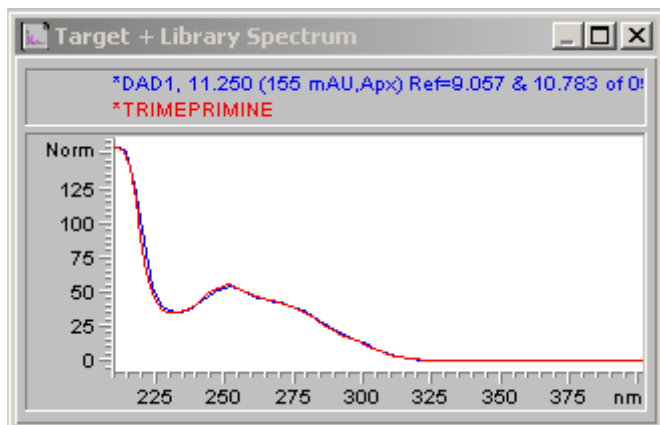
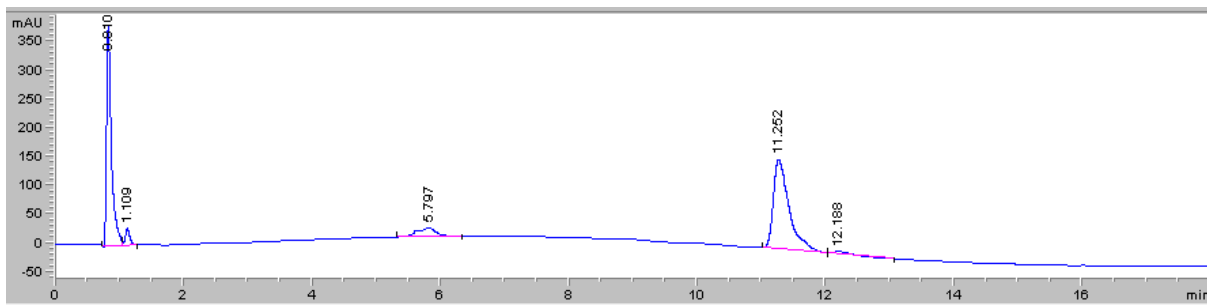
méthylpropyl]-10,11-dihydro-5H-

dibenz[b,f]azépine

La Trimipramine appartient à la famille des antidépresseurs tricycliques (ATC). Elle est prescrite dans le traitement de la dépression et agit en modifiant l'équilibre de certaines substances chimiques du cerveau appelées neurotransmetteurs.

C'est un inhibiteur de la recapture de la noradrénaline.[12]

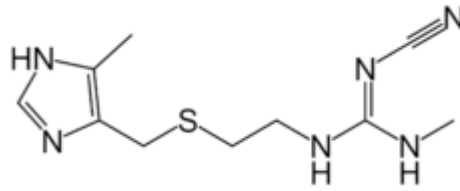
Figure 8 : Spectre et Chrommatogramme de Trimipramine



Library Search Results: Instrument 1				
Show Spectrum    More Info    Print				
#	Match	Entry	Time	Name
1	996.823	237	12.70	TRIMEPRIMINE
2	996.731	172	9.90	IMIPRAMINE
3	945.692	205	10.18	METAPRAMINE
4	921.371	619	12.41	PRISTINAMYCINE ?
5	919.661	602	13.39	MET M8 NELFINAVIR

La Trimipramine est identifiée par un spectre et un temps de rétention bien concordants avec ceux en bibliothèque spectrale angevine : le temps de rétention du pic du médicament sur le chromatogramme est 11.25min, celui en bibliothèque 12.70min et le facteur match est de 996.823

## 7. CIMETIDINE



C'est 1-cyano-2-méthyl-3-[2-

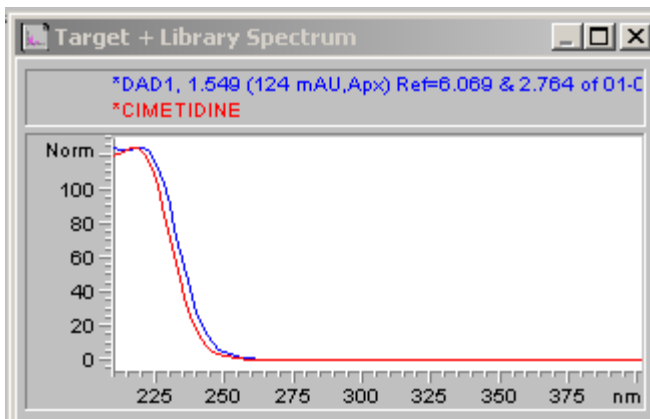
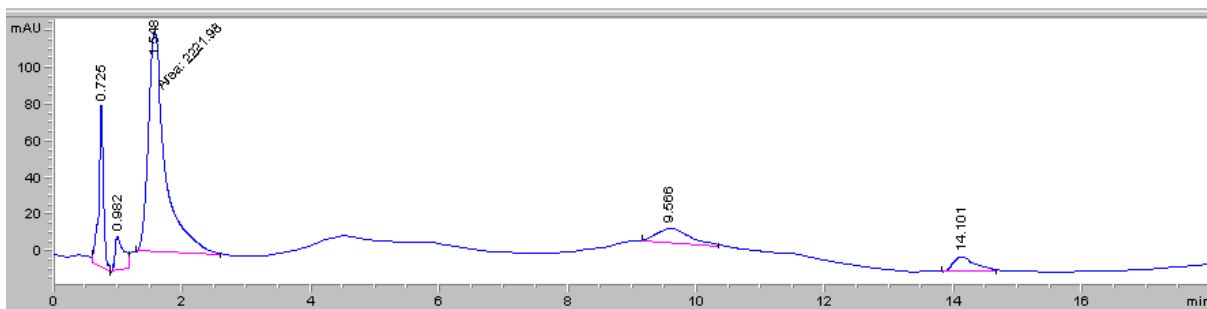
[(5-méthyl-1H-imidazol-

4-yl) méthylsulfanyl] éthyl] guanidine.

La Cimétidine est prescrite pour diminuer la douleur causée par un ulcère et les brûlures d'estomac ou pour aider à guérir les ulcères ou les lésions provoquées par le reflux gastro-œsophagien pathologique.

La Cimétidine est aussi administrée pour prévenir les ulcères dans certains cas et pour traiter certains troubles de la santé associés à une hypersécrétion gastrique.

**Figure 9 : Spectre et Chrommatogramme de la Cimétidine**



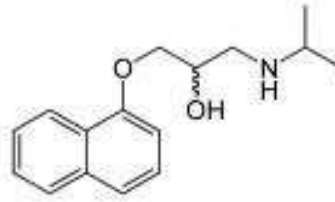
Library Search Results: Instrument 1

Show Spectrum More Info Print

#	Match	Entry	Time	Name
1	986.072	108	1.57	CIMETIDINE
2	943.341	530	1.55	MET2 IBUPROFENE ?
3	881.835	762	1.43	SUMATRIPTAN ou dérivé
4	824.462	65	1.70	TIAPRIDE
5	808.324	331	1.67	MFT NH2 ACFRUITOI NI

Le spectre obtenu par Cimétidine dans notre étude est bien superposé à celui du même médicament enregistré dans la bibliothèque spectrale d'Anger (Toxicol.uvl). Le temps de rétention que nous avons trouvé pour l'Amineptine (1.54min) est également proche de celui en bibliothèque(1.57min).

## 8. PROPRANOLOL



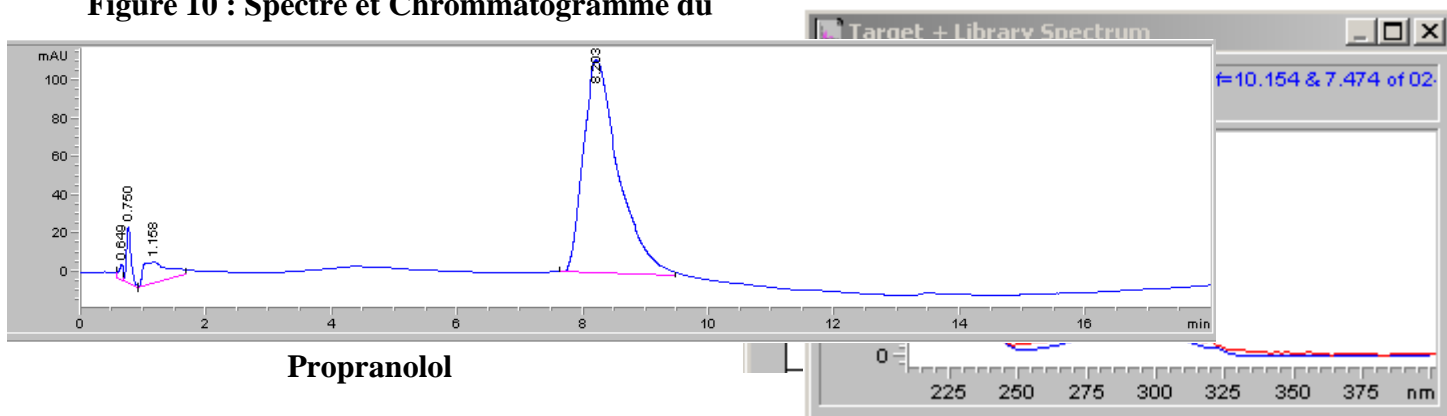
C'est le 1-(isopropylamino)-3-(naphthalen-1-yloxy)propan-2-ol. Appartenant à la famille des bêtabloquants (les médicaments qui inhibent les récepteurs adrénergiques  $\beta$ ).

Les bêtabloquants sont des antagonistes du système sympathique. Le Propranolol est dit non cardio-sélectif car bloque les récepteurs bêta-1 cardiaque et bêta-2 non cardiaque.

Ils ont donc des effets par rapport :

- Au blocage des bêta1 récepteurs cardiaques (diminution la force contractile du cœur, ralentissement de la fréquence cardiaque, ralentissement de la conduction auriculo-ventriculaire).
- Au blocage des bêta-recepteurs extra-cardiaques.

Figure 10 : Spectre et Chromatogramme du



Sur ce chromatogramme, nous avons identifié le Met propranolol avec une bonne concordance spectrale et un temps de rétention (8.20min) proche de celui de la bibliothèque (7.53min).

Pour alimenter notre bibliothèque spectrale CAPM-LAB, l'analyse chromatographique a été faite trois fois pour chaque médicament. La moyenne des temps de rétention obtenus pour chaque standard a été comparé au temps de rétention de celui enregistré dans la bibliothèque spectrale d'Anger(Toxicol.uvl). les résultats sont représentés par le tableau III.

Tableau III : Comparaison des temps de rétention obtenus avec ceux en bibliothèque





Nouveaux standards introduits dans la bibliothèque CAPM-LAB	Temps de rétention en CAPM-LAB (min)				Temps de rétention en bibliothèque d'Anger (Toxicol.uvl)	Ecart type	Coefficient de variation %
	1 <sup>ère</sup> injection	2 <sup>ème</sup> injection	3 <sup>ème</sup> injection	Moyenne			
Amineptine	7.53	7.62	7.77	7,64	7.81	0,12	1,56
Estazolam	8.74	8.85	8.91	8,83	9.02	0,13	1,48
Tétrazépam	11.82	11.87	11.79	11,83	12.70	0,62	5,04
Loflazépatate	8.32	8.39	8.30	8,34	8.40	0,04	0,54
Cimétidine	1.54	1.40	1.39	1,44	1.57	0,09	5,94
Trimipramine	11.25	11.57	12.01	11,61	12.70	0,77	6,34
Imipramine	9.97	9.95	10.01	9,98	9.90	0,05	0,55
Propranolol	8.20	7.62	7.30	7,71	7.53	0,12	1,64

Pour les injections des médicaments utilisés comme étalons internes dans le cadre du développement de la bibliothèque du CAPM-LAB, nous avons noté une bonne corrélation entre la moyenne des temps de rétention des trois injections avec les temps de rétentions enregistrés en bibliothèque spectrale (Toxicol.uvl). Le coefficient de variation calculé ne dépassait pas 15% (il va de 0.55 à 6.34%). Ceci nous a permis d'accepter nos résultats et de les introduire dans la bibliothèque spectrale du CAPM-LAB.



# CONCLUSION



## **Screening toxicologique réalisé chez les 40 patients**

Sur les 38 patients étudiés, 30 cas traités par les méthodes analytiques simples (colorimétriques, enzymatiques et spectrophotométriques) ont montré une bonne corrélation avec leur analyse du screening toxicologique par HPLC-BD. Ceci montre que l'analyse toxicologique par cet appareil est une méthode de confirmation des techniques qualitatives. Autrement dit, pour un dépistage toxicologique, la démarche consiste à utiliser dans un premier temps des techniques qualitatives qui sont simples et rapides souvent peu spécifiques et permettant de rechercher ou exclure de manière systématique les toxiques suspectés. Ces méthodes sont secondairement confirmées par des méthodes plus sophistiquées et plus spécifiques et essentiellement chromatographiques (HPLC-BD) qui sont capables de détecter et d'identifier un nombre important de xéno biotiques avec une grande sélectivité.

Les cas notés de non concordance entre les deux méthodes peuvent être expliqués par les interférences connues pour les méthodes colorimétriques pouvant donner lieu à des faux positifs ou faux négatifs.

Chez les 38 patients ayant un tableau clinique bien établi et un screening toxicologique complet, nous avons noté dans la plupart des cas, une parfaite concordance entre l'état clinique du malade et le résultat du screening par HPLC-BD. Ceci montre que cette méthode de recherche toxicologique est très dépendante de l'orientation du clinicien. Les non concordances observées chez les 9 cas peuvent être expliquées soit par le fait que le médicament suspecté par le clinicien n'est pas référencié en bibliothèque, soit que le médicament a été déjà éliminé (délai important entre l'intoxication et le prélèvement) ou bien qu'il s'agit d'une intoxication autre que les médicaments (pesticides, alcool...).

## **Alimentation de la bibliothèque spectrale CAPM- LAB**

Le laboratoire du centre Antipoison du Maroc a créé sa propre bibliothèque CAPM-Lab en 2008 afin d'augmenter la sensibilité et la spécificité des analyses. Cette bibliothèque contenait 50 standards. Durant notre étude, nous avons pu introduire 8 nouveaux médicaments. L'analyse a été répétée trois fois pour chaque standard. Les temps de rétention obtenus sont très proches de ceux enregistrés en bibliothèque du centre Hospitalier d'Anger (Toxicol.uvl), ce qui nous permet de valider nos spectres obtenus et les ajouter dans la bibliothèque spectrale du CAPM-Lab. Donc le



---

nombre des standards introduits dans la bibliothèque actuellement est de 58 alors qu'il était de 50 avant.

La bibliothèque CAPM-Lab va être encore alimentée par d'autres nouveaux standards pour qu'on puisse prochainement comparer directement à la bibliothèque CAPM-Lab tous les spectres obtenus par screening toxicologique des patients reçus.



# **ANNEXES**



## BIBLIOGRAPHIE

- [1] [6] : Place des analyses toxicologiques  
P. Compagnona, V. Danelb, J.-P. Goulléc  
Disponible sur internet le 21 juillet 2006
- [2] : La toxicologie médicale : état des lieux et perspectives  
A. Jaeger, Hôpitaux universitaires De Strasbourg, 25 août 2009  
Disponible sur Internet le 17 septembre 2009
- [3] : Apport Du Screening Toxicologique Par HPLC/Bd Lors des intoxications  
Médicamenteuses  
  
Celine Dehan a,\*, Christine Ponchel b, Manuela Oliver a, Sandra Bohand a, Jean-Luc  
Moalic a, Michel Chevrier a, rpentier b, Anne-Marie Pauli c  
  
Revue Frangaise des Laboratoires, octobre 2001, N ° 336
- [4] : Livre Les urgences en toxicologie  
  
Jaques DESCOTES Hôpital Edouard Herriot, Lyon  
  
Laboratoire de biochimie-toxicologie Analyse des traces  
Hôpital. Edouard Herriot, Lyon
- [5] : Toxicologie Clinique  
Chantal BISMUTH ; Frédéric Joseph BAUD ; Françoise CONSO ; Jean- Pierre  
FREJAVILLE ; Robert
- [7] : Stratégies analytiques en toxicologie d'urgence  
Bernard CAPOLAGHI, Mustapha MOULSMA,  
Nicole HOUDRET, Frédéric J. BAUD
- [8] : Annales de Biologie Clinique. Volume 55, Numéro 3, 223-8, Mai - Juin 1997, Articles  
originaux  
  
Auteur(s) : M. Manchon, A. Mialon, C. Berny, P. Baltassat, Laboratoire des urgences  
biochimiques et toxicologiques, Centre hospitalier Lyon-Sud, 69495 Pierre-Bénite cedex.
- [9] : Toxicologie Maroc - N° 4 - 1er trimestre 2010  
  
M. Idrissi<sup>1,2</sup>, N. Aït Daoud<sup>1,2</sup>, R. Soulaymani Bencheikh<sup>1,3</sup>



---

1-Centre Anti Poison du Maroc  
2-Faculté des Sciences, Université Ibn Tofail – Kénitra  
3-Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat

[10] : Intoxications Aiguës Par Les Benzodiazépines

Guillaume Hoizeya~b~\*, HEleN Marty a,b, Denis Lamiable b, Richard Vistellea**b**

[11] :Medicolegal aspects of tetrazepam metabolism

Marion Pavlic & Kathrin Libiseller & Petra Grubwieser & Heinrich Schubert &Walter Rabl

[12] : Intoxication aiguë& antidépresseurs tricycliques

Auteurs : Dr Bruno Mégarbane, Dr.Arnaud Delahaye ; mars 2003

Service de réanimation médicale et toxicologique, Hôpital Lariboisière

[13] : intoxication aiguë par les toxiques avec effet stabilisant de membrane

Auteur : Bruno Mégarbane, Frédéric Baud, mars 2003

[14] :Antidépresseurs. History

H. Lôo, A. Galinowski, M.-F. Poirier, F. Hartmann, M.-O. Krebs, F. Chauchot, J.-P. Olié

Service hospitalo-universitaire de santé mentale et de thérapeutique, centre hospitalier Sainte-Anne,

[15] :The Clinical Pharmacokinetics of Single Doses of Estazolam

Linda E. Gustavson, Ph.D., Philip J. Carrigan, Ph.D. Mott Park, Mois

[16] : COMITE OMS D'EXPERTS DE LA PHARMACODEPENDANCE

[17] : Analyse critique des différentes méthodes utilisées pour dépistage toxicologique dans un laboratoire d'urgence

Anales de biologie Clinique. Volume 57, N° 5,525-37,

Frejaville JP, Bourdon R, et al. Toxicologie clinique et analytique