



UNIVERSITÉ
DE LORRAINE



FACULTÉ DE
MÉDECINE / MAÏEUTIQUE /
MÉTIERS DE LA SANTÉ à NANCY



27^{èmes} Rencontres Professionnelles du RESPADD
Addictions & Technologies

Méthodes d'Analyses Toxicologiques & Addictologie

Dr Julien SCALA-BERTOLA
Service de Pharmacologie clinique – Toxicologie
UMR CNRS 7365 IMoPA
Faculté de Médecine de Nancy

Mini Sondage...

ETHANOL (Plasma / Sérum)

Ethanol

Méthode enzymatique (SIEMENS ATELLICA)

CANNABINOÏDES

Delta-9-Tétrahydrocannabinol (THC)

Chromatographie Liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem : CL-SM/SM

THC-OH (Métabolite actif du THC)

Chromatographie Liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem : CL-SM/SM

THC-COOH (Métabolite inactif du THC)

Chromatographie Liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem : CL-SM/SM

DEPISTAGE STUPEFIANTS URINAIRES

Amphétamines:

Immunodosage EMIT Siemens (Atellica CH Siemens)

Cannabis:

Immunodosage EMIT Siemens (Atellica CH Siemens)

Cocaine:

Immunodosage EMIT Siemens (Atellica CH Siemens)

Opiacés:

Immunodosage EMIT Siemens (Atellica CH Siemens)



CRIBLAGES TOXICOLOGIQUES

Criblage toxicologique étendu LC-MS

Chromatographie Liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem : CL-SM/SM

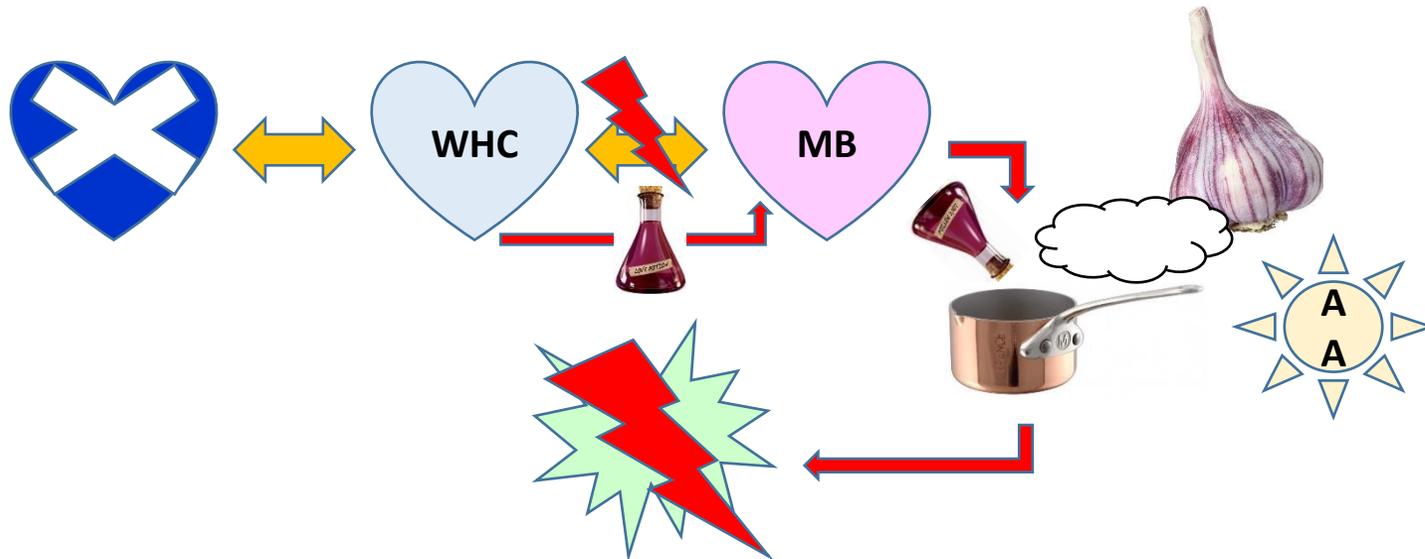
Petit Retour au 18^{ème} siècle...1752 !

- Affaire Mary Blandy (03 Mars 1752, UK)

- 1^{er} Test de dépistage d'une substance

- Condamnation pour Parricide :

- ❖ Francis Blandy : Le Papa
- ❖ William Henry Cranstoun : Le Chéri
- ❖ Anthony Addington : L'Expert
- ❖ Le filtre d'Amour : ???



Evolution des Méthodes d'Analyses Toxicologiques

- 19^{ème} Siècle : Avènement des Méthodes Chimiques

- Détection des poisons métalliques

- ❖ Marsh : Arsenic

- ❖ Reinsch : Antimoine, Bismuth, Mercure

- Extraction des molécules organiques

- ❖ Stas & Otto : Extraction par solvant

- Technique colorimétrique & Barbituriques

- Précipitation des protéines



- 2^{nde} Moitié du 20^{ème} Siècle : Avènement des Méthodes Physico-Chimiques

- Méthodes Spectrophotométriques (Détection UV/Visible/Fluorescence)

- Méthodes Chromatographiques (Séparation)

...Et Aujourd'hui ?

- Méthodes de Dépistage
→ Méthodes Chimiques



Test	Substances Recherchées
Libermann	Méthamphétamine, Morphine
Mandelin	Méthadone, Amphétamine, Méthamphétamine
Marquis	Héroïne, Morphine, Amphétamines
Scott	Cocaïne
van-Urk / Salkowski / Ehrlich	LSD
Duquenois-Levine	THC
...	



...Et Aujourd'hui ?

• Méthodes de Dépistage

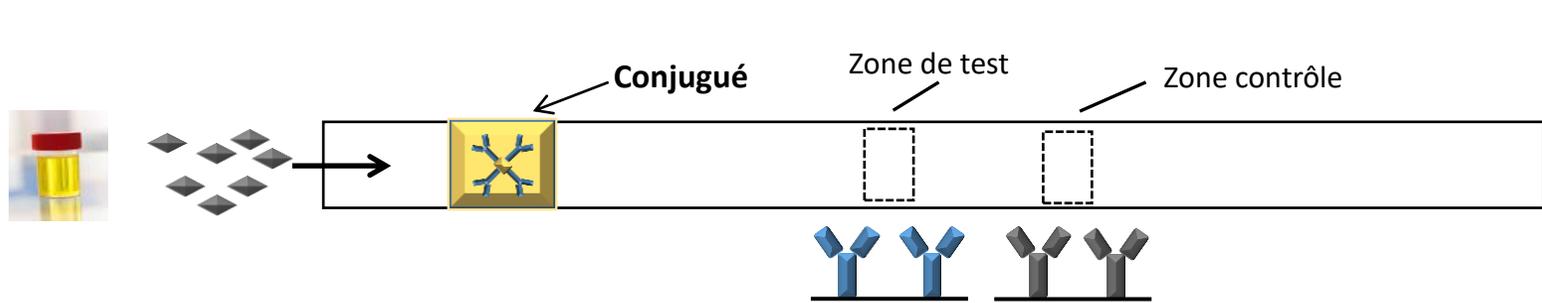
→ Méthodes par Immunoanalyse (Rapid Test)



Dépistage Urinaire

Cut-off à 300 ng/mL sauf :

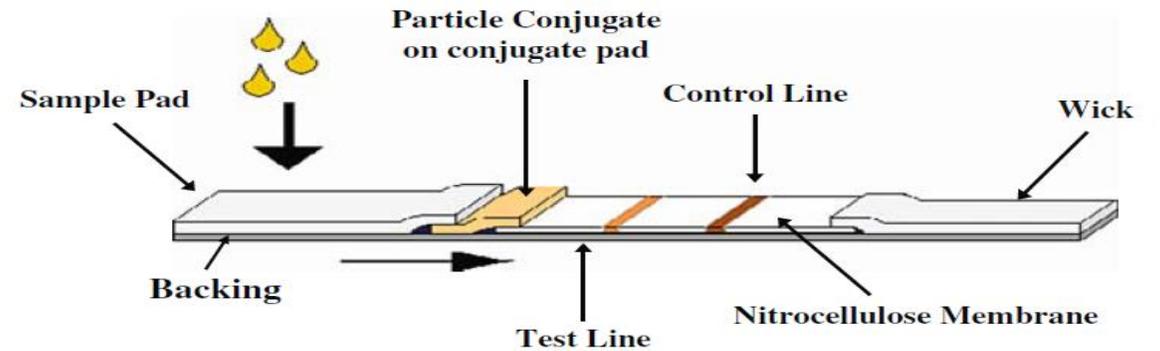
- MDMA : 500 ng/mL
- ATC : 1000 ng/mL
- THC : 50 ng/mL
- BUP : 10 ng/mL



Dépistage Salivaire

Cut-off :

- AMPs : 50 ng/mL
- OPI/COC : 10 ng/mL
- THC : 15 ng/mL



...Et Aujourd'hui ?

- Méthodes de Dépistage

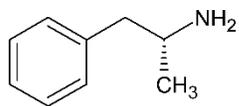
- Méthodes par Immunoanalyse
- Stupéfiants, BZD, ...

- Méthodes simples, rapides et automatisables

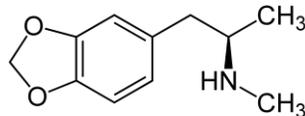
- Techniques basées sur l'interaction anticorps/antigènes
 - Reconnaissance d'une structure chimique
 - Ag = Substance recherchée ou Famille
- Méthodes Enzymatiques / Spectrophotométriques

- Limites

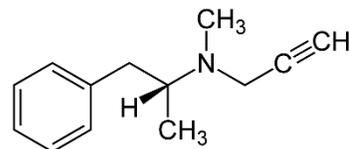
- **Spécificité = Capacité à détecter la bonne molécule**
 - Existence de Faux positifs et/ou de Faux négatifs
 - Dépendante de la spécificité de l'Ac utilisé
- **Sensibilité = Capacité à détecter de faibles []**



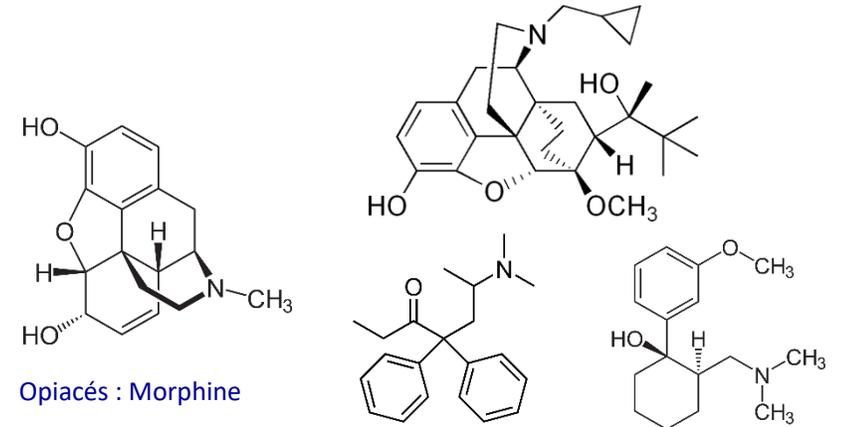
Amphétamine



MDMA

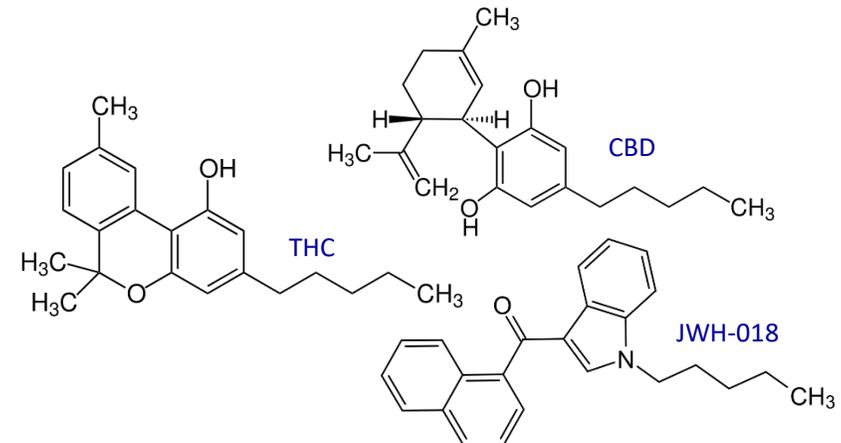


Sélégiline



Opiacés : Morphine

Opioïdes : Buprénorphine, Méthadone, Tramadol



...Et Aujourd'hui ?

- Méthodes de Confirmation

 - Méthodes Chromatographiques

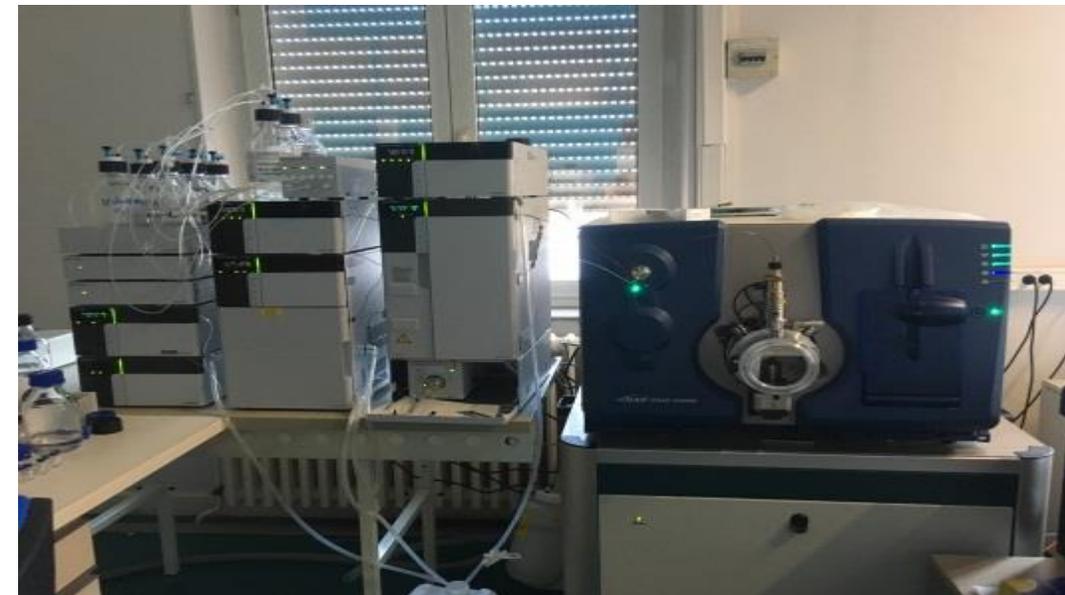
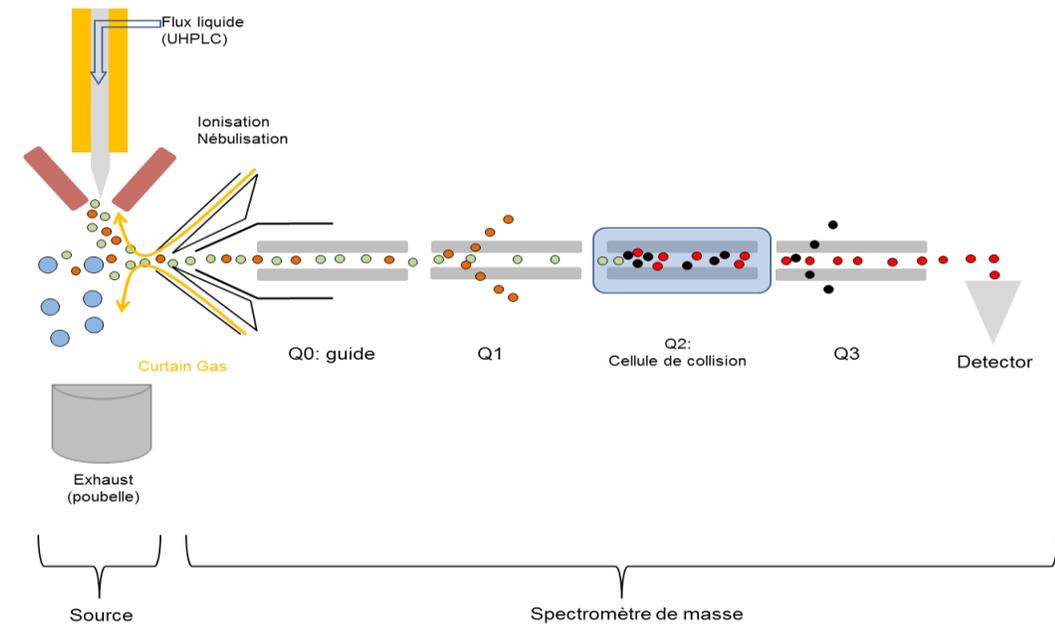
- Méthodes physiques spécifiques et sensibles

 - Méthodes de Référence : CL-SM/SM – CG-SM/SM
 - Recherche et Dosage simultanés (Multiplex)
 - Criblage Toxicologique Large

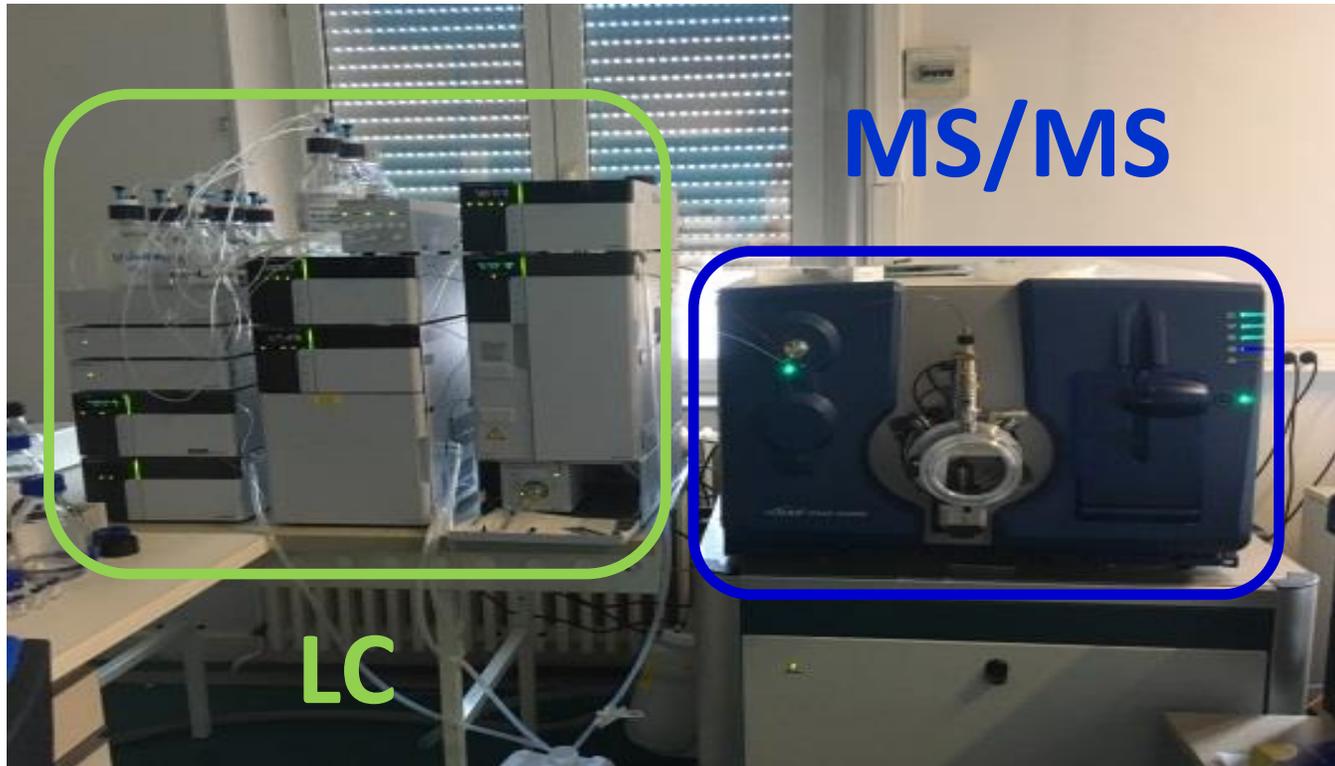
- Limites



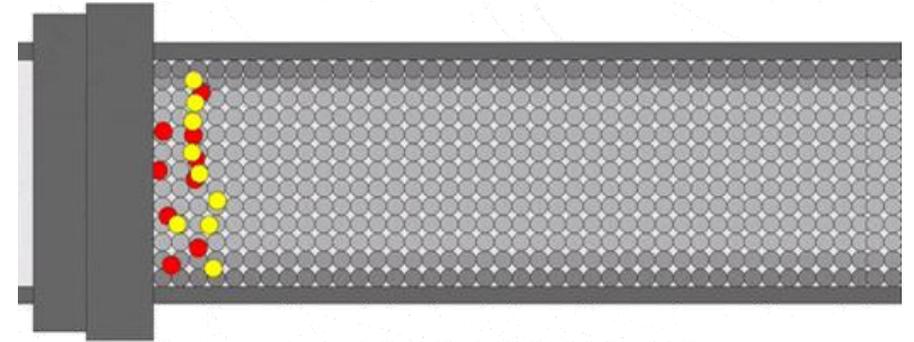
 - Matériels coûteux
 - Mise au point et validation des méthodes d'analyse
 - Personnel qualifié



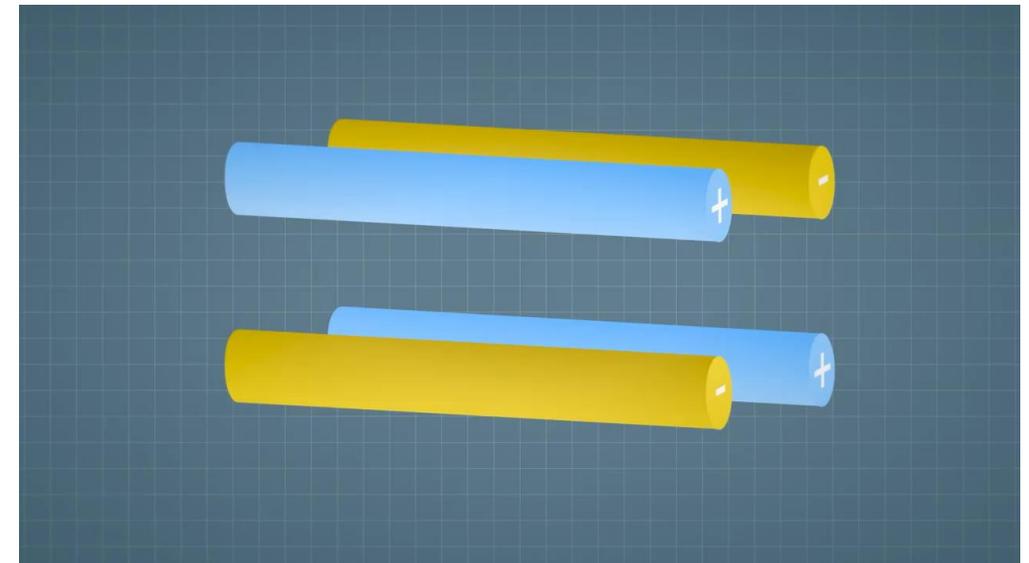
...Et Aujourd'hui ?



Séparation



Détection

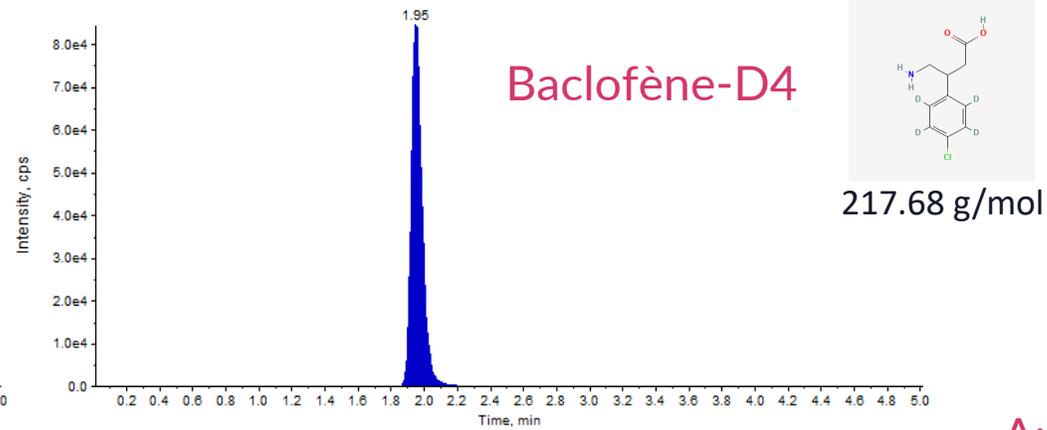
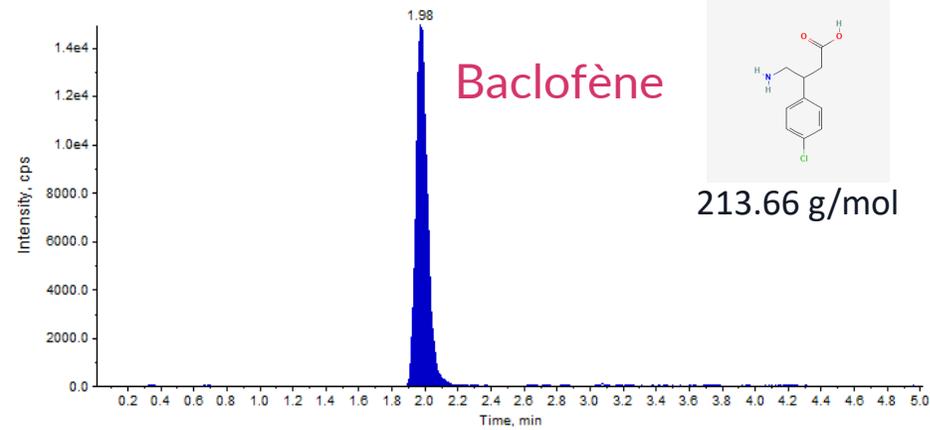


...Et Aujourd'hui ?

Contrôle seul, pic d'intérêt à TR = 1,98min

QC 80 - Baclofene-1 (QC) 214.100/116.100 Da - sample 5 of 11 from 2021_11_18_173911_BACLOFENE Plasma vials H24 avec in...
Area: 7.04e+004 counts Height: 1.52e+004 cps RT: 1.98 min

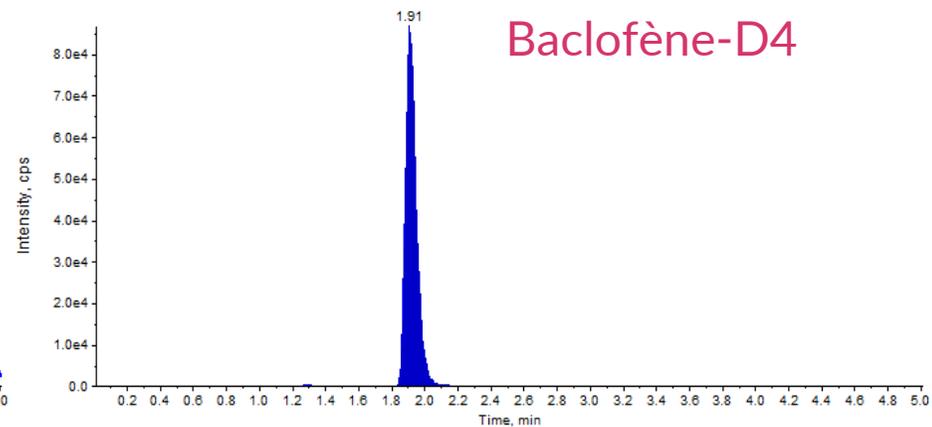
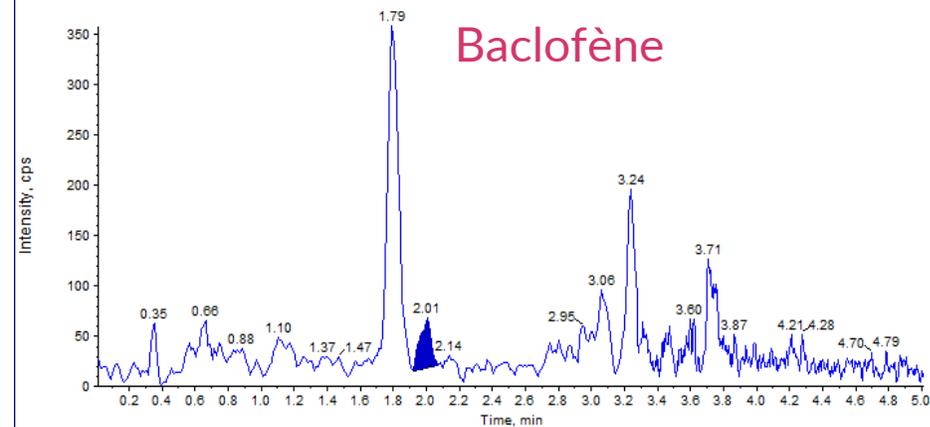
QC 80 - Baclofene-D4(IS) (QC) 218.000/120.100 Da - sample 5 of 11 from 2021_11_18_173911_BACLOFENE Plasma vials H24 avec interferen...
Area: 3.81e+005 counts Height: 8.63e+004 cps RT: 1.95 min



Absence de pic au TR caractéristique du baclofène

int-STUPS-1 - Baclofene-1 (Unknown) 214.100/116.100 Da - sample 9 of 11 from 2021_11_18_173911_BACLOFENE Plasma vial...
Area: 2.30e+002 counts Height: 4.96e+001 cps RT: 2.01 min

int-STUPS-1 - Baclofene-D4(IS) (Unknown) 218.000/120.100 Da - sample 9 of 11 from 2021_11_18_173911_BACLOFENE Plasma vials H24 av...
Area: 3.93e+005 counts Height: 8.75e+004 cps RT: 1.91 min



Aucune interférence avec
76 molécules
(Médicaments +
Stupéfiants)

...Et Aujourd'hui ?

Forensic Science International 317 (2020) 110437



Contents lists available at ScienceDirect

Forensic Science International

journal homepage: www.elsevier.com/locate/forsciint



Multiplex detection of 14 fentanyl analogues and U-47700 in biological samples: Application to a panel of French hospitalized patients



Jean Jung^{a,1}, Allan Kolodziej^{a,1}, Elise Pape^{a,b}, Michael Bisch^c, Lucie Javot^a, Valérie Gibaja^a, Jean-Yves Jouzeau^{a,b}, Julien Scala-Bertola^{a,b}, Nicolas Gambier^{a,b,*}

^a Université de Lorraine, CHRU-Nancy, Department of Clinical Pharmacology and Toxicology, F-54000, Nancy, France

^b Université de Lorraine, CNRS, IMoPA, F-54000 Nancy, France

^c Pôle Hospitalo-Universitaire du Grand Nancy, Centre Psychothérapique de Nancy, Département d'Addictologie, F-54520 Laxou, France

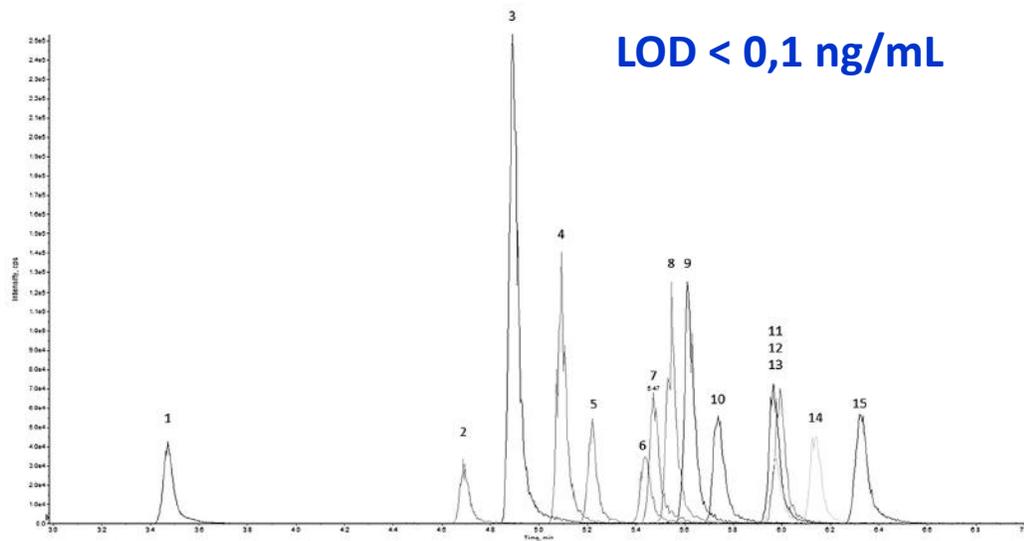


Fig. 1. LC-MS/MS chromatogram of a whole blood sample spiked with fentanyl and its analogs at 5 ng/mL. **1:** Norfentanyl (RT = 3.49). **2:** Remifentanyl (RT = 4.70). **3:** Methoxyacetylfentanyl (RT = 4.92). **4:** Ocfentanyl (RT = 5.11). **5:** Alfentanil (RT = 5.25). **6:** U-47700 (RT = 4.70). **7:** Acrylfentanyl (RT = 5.47). **8:** Fentanyl (RT = 5.52). **9:** Furanylfentanyl (RT = 5.65). **10:** 4-ANPP (RT = 5.77). **11:** 4-méthoxybutyrfentanyl (RT = 6.01). **12:** Carfentanyl (RT = 6.01). **13:** Despropionyl-2-fluorofentanyl (RT = 6.03). **14:** Sufentanil (RT = 6.18). **15:** Valeryfentanyl (RT = 6.38).

Analytical and Bioanalytical Chemistry
<https://doi.org/10.1007/s00216-022-04073-9>

RESEARCH PAPER



Online SPE UPLC-MS/MS method for the simultaneous determination of 33 psychoactive drugs from swab-collected human oral fluid samples

Benoit Mercier¹ · Julien Scala-Bertola^{1,2} · Elise Pape^{1,2} · Allan Kolodziej¹ · Valérie Gibaja¹ · Michael Bisch³ · Jean-Yves Jouzeau^{1,2} · Nicolas Gambier^{1,2}

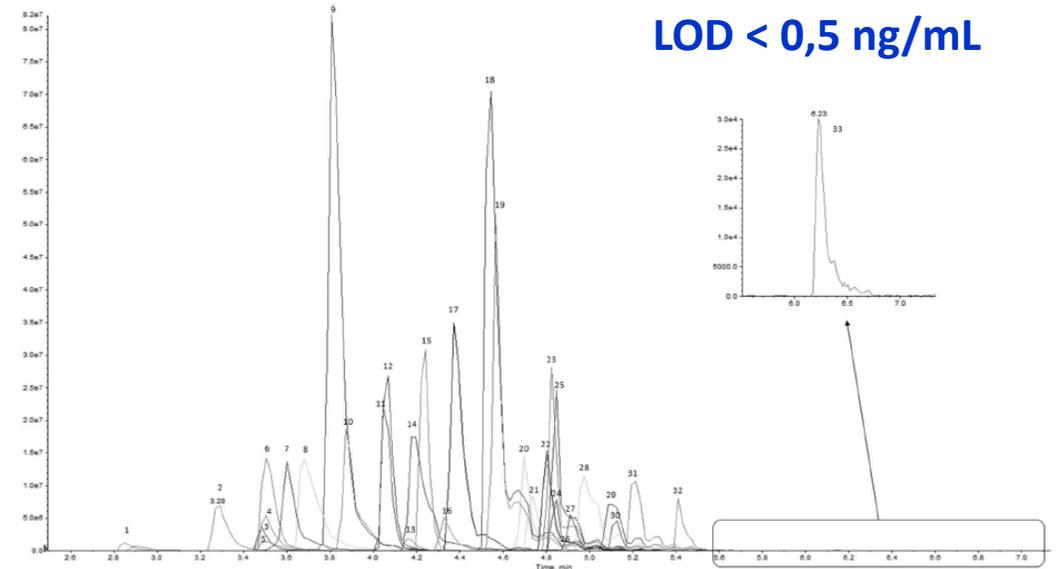


Fig. 2 MRM chromatogram of all compounds in an oral fluid sample spiked at a concentration of 50 ng/mL of each analyte. **1:** Morphine (RT = 2.85). **2:** Amphetamine (RT = 3.28). **3:** Codeine (RT = 3.48). **4:** 6-MAM (RT = 3.50). **5:** MDA (RT = 3.50). **6:** Methamphetamine (RT = 3.51). **7:** Oxycodone (RT = 3.60). **8:** MDMA (RT = 3.68). **9:** Mephedrone (RT = 3.81). **10:** MDEA (RT = 3.88). **11:** Norketamine (RT = 4.05). **12:** Norfentanyl (RT = 4.06). **13:** Tramadol (RT = 4.16). **14:** Benzoylcegonine (RT = 4.19). **15:** Ketamine (RT = 4.23). **16:** Remifentanyl (RT = 4.33). **17:** Cocaine (RT = 4.38).

18: Methoxyacetylfentanyl (RT = 4.54). **19:** Ocfentanyl (RT = 4.57). **20:** 4-ANPP (RT = 4.70). **21:** U-47700 (RT = 4.74). **22:** Alfentanil (RT = 4.80). **23:** Acrylfentanyl (RT = 4.83). **24:** Despropionyl-2-fluorofentanyl (RT = 4.84). **25:** Fentanyl (RT = 4.85). **26:** Buprenorphine (RT = 4.89). **27:** Carfentanyl (RT = 4.92). **28:** Furanylfentanyl (RT = 4.98). **29:** 4-Methoxybutyrfentanyl (RT = 5.10). **30:** Sufentanil (RT = 5.12). **31:** Valerylfentanyl (RT = 5.21). **32:** Methadone (RT = 5.41). **33:** THC (RT = 6.23). RT retention time

Analyses Toxicologiques et Soumission Chimique

• Recherche et Dosage

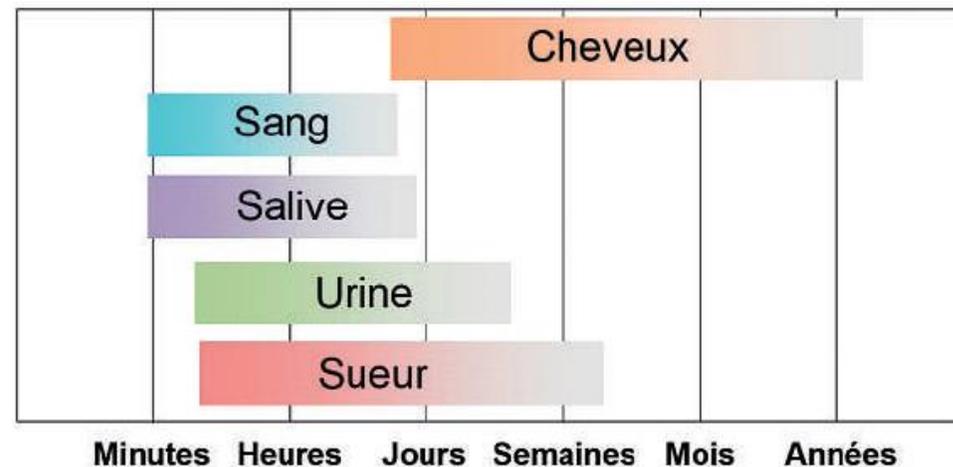
- Immunoanalyse → Utilité ???
- LC-MS/MS ou GC-MS/MS
- Prélèvements **Précoces**
 - 1 Tube Fluorure de Sodium
 - 1 Tube EDTA
 - 1 Tube à Urines



• Analyses Spécifiques

- Ethanol + EtG/EtS
- GHB + Stupéfiants (n=81)
- Benzodiazépines (n=27)
- Antiépileptiques (n=28)
- Neuroleptiques (n=35)
- Antidépresseurs (n=30)
- Autres (n=7)

Molécules	Méthodes Immuno		Méthodes séparatives			
	FPIA	Cedia	CLHP-BD	CPG-SM	CL-SM	CL-SM/SM
Lorazépam	ND	96h	ND	84h	84h	≥ 144h
Bromazépam	ND	48h	12h	72h	84h	≥ 144h
OH-Bromazépam	ND	ND	36h	24h	108h	144h
NH2-flunitrazépam	ND	48h	36h	48h	96h	≥ 144h
NH2-clonazépam	ND	96h	12h	132h	144h	≥ 144h
Zolpidem	ND	ND	24h	12h	60h	144h
Zopiclone	ND	ND	12h	ND	48h	120h



Dont Doxylamine, Cyamémazine, Diphenhydramine, Hydroxyzine, Alimémazine, Prégabaline, Risperidone, Alprazolam, Bromazepam, Diazepam, Nordazepam, Zopiclone, Oxazepam, Zolpidem

...Et Demain ?

• Aujourd'hui...

➤ La performance des méthodes spectrométriques permet :

- Recherche simultanée d'un très grand nombre de molécules
- Recherche dans un très grand nombre de matrices biologiques

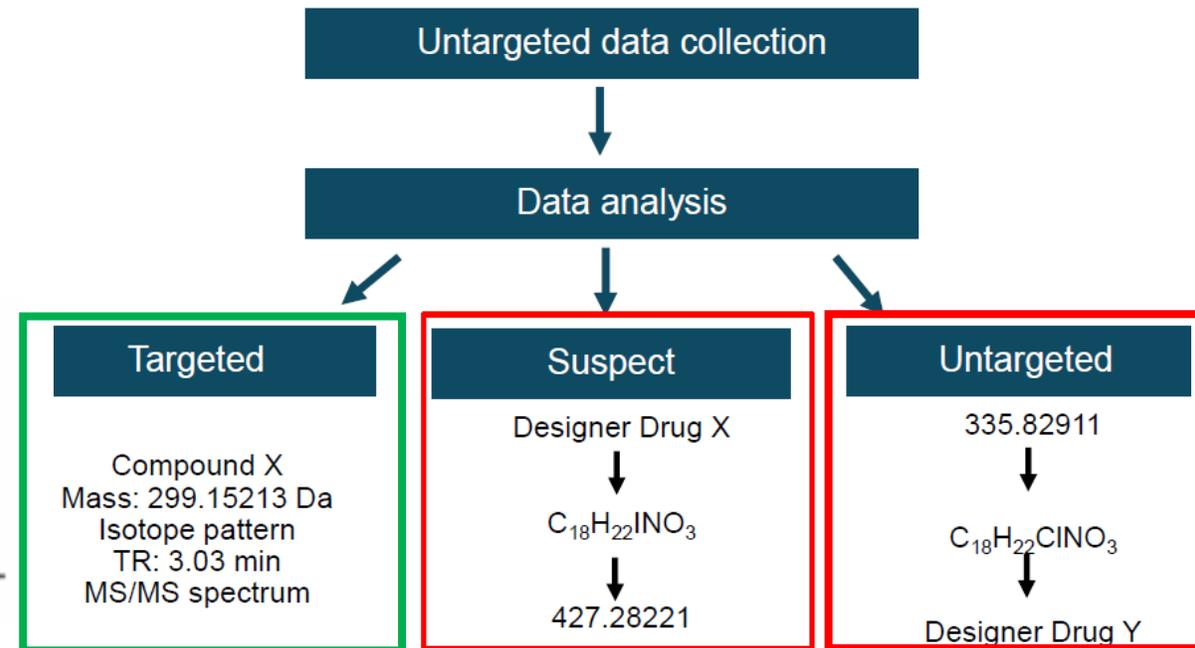
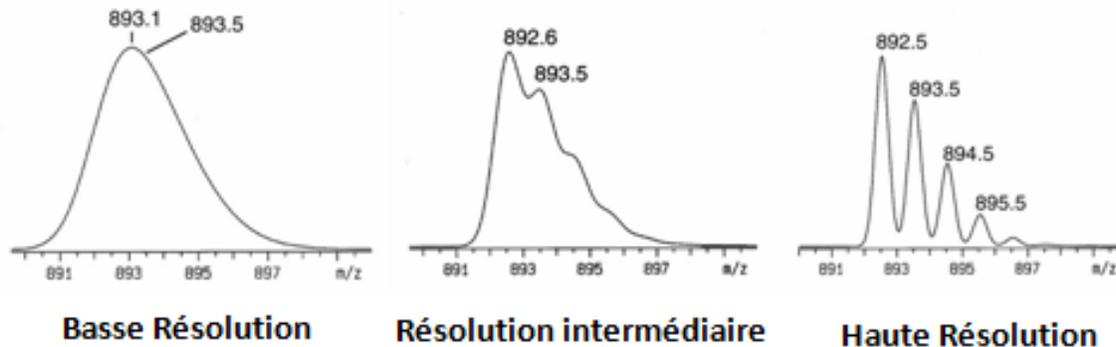
MAIS : Recherche ciblée de molécules connues !



• ...Demain

➤ MS Haute Résolution (HR-MS)

- Recherche de Molécules Inconnues
- Recherche de Nouveaux Marqueurs



Merci Pour Votre Attention !

