

La chimie analytique au service de la toxicologie médico-légale

Pauline Sibille est ingénieur de l'École Nationale Supérieure de Chimie de Montpellier (ENSCM). Après un séjour en Écosse pour une spécialisation en toxicologie analytique, elle est revenue à Paris effectuer une thèse en chimie thérapeutique. Pauline Sibille travaille aujourd'hui en tant qu'ingénieur en toxicologie à l'Institut National de Police Scientifique (INPS) au Laboratoire de Toxicologie de la Préfecture de Police.

1 Contexte de la toxicologie médico- légale

1.1. L'empoisonnement à travers les âges

L'étymologie du mot « toxicologie » permet de relier cette spécialité scientifique aux poisons via le mot grec

« *toxicon* ». L'utilisation de poisons, à des fins criminelles ou non, n'est pas récente comme le montrent quelques empoisonnements célèbres que nous pouvons citer.

En 399 avant J.-C., Socrate a été condamné à mort par ingestion d'une coupe de ciguë (**Figure 1**).

1. L'Institut national de police scientifique (INPS) est un établissement public administratif sous tutelle du ministre de l'Intérieur, créé par l'article 58 de la loi du 15 novembre 2001 sur la sécurité. L'INPS a pour mission d'effectuer les examens et analyses scientifiques et techniques demandés par les autorités judiciaires et les enquêteurs de police ou de gendarmerie dans un cadre pénal. Voir le **Chapitre de F. Dupuch**, dans *Chimie et expertise, sécurité des biens et des personnes*, coordonné par M.-T. Dinh-Audouin, D. Olivier et P. Rigny, EDP Sciences, 2014.
Site : www.police-nationale.interieur.gouv.fr/Organisation/Etablissements-publics/INPS

Figure 1

La mort de Socrate suite à l'absorption de ciguë.



En 1450, Agnès Sorel (Figure 2), alors maîtresse du roi de France, décède lors de son quatrième accouchement, si rapidement que cela laisse soupçonner un empoisonnement. En effet, en 2004, l'autopsie de son corps et l'analyse toxicologique des prélèvements effectués ont mis en évidence une dose massive de mercure.

En 1676, Marie Madeleine Dreux d'Aubray, marquise de Brinvilliers, est décapitée pour avoir empoisonné son père et ses frères (Figure 3).

En 1851, Hélène Jégado ou « l'empoisonneuse bretonne »

(Figure 4) est condamnée à mort pour cinq empoisonnements et cinq autres tentatives ; elle aurait empoisonné plus de trente personnes à l'arsenic.

Un an après, c'est l'affaire Marie Lafarge (Figure 5). Accusée du crime d'empoisonnement de son mari, ici encore avec de l'arsenic, alors considéré comme le roi des poisons, elle a été condamnée aux travaux forcés à perpétuité.

En 1902, Émile Zola (Figure 6) décède d'une intoxication au monoxyde de carbone. Il dormait dans une chambre avec sa femme et un feu mal éteint couvait dans sa cheminée dont le conduit était bouché. Le gaz toxique lui a été fatal. Mais quelqu'un avait-il délibérément obstrué ce conduit ? Accident ou meurtre parfait ? L'Histoire n'a pas conclu.

Plus récemment, en 1949, Marie Besnard ou « la veuve noire » a été accusée de la mort de douze personnes de son entourage par empoisonnement à l'arsenic (Figure 7).

Figure 2

Agnès Sorel décède extrêmement rapidement lors de son quatrième accouchement, ce qui fait penser à un empoisonnement.





Figure 3

La Marquise de Brinvilliers torturée et décapitée pour avoir empoisonné son père et ses frères.



Figure 4

Hélène Jégado, l'« empoisonneuse bretonne », a utilisé de l'arsenic.



Figure 5

Marie Lafarge, accusée d'empoisonnement de son mari à l'arsenic.



Figure 6

Émile Zola est décédé d'une intoxication au monoxyde de carbone.



Figure 7

L'arsenic, substance incriminée dans de nombreuses affaires d'empoisonnement.

L'enquête, qui a duré plus de dix années, se conclut sur un acquittement en 1960.

1994 a été l'année de l'affaire de la Josacine® empoisonnée : Emilie Tanay, une fillette de neuf ans, prend son antibio-

tique (Josacine®), lui trouve mauvais goût et décède peu après. Les analyses du flacon de Josacine® (Figure 8) ainsi que celles des prélèvements autopsiques de la fillette ont révélé la présence de cyanure.

Figure 8

Flacon de Josacine®, connue pour l'affaire de la « Josacine empoisonnée ».



Figure 9

Le polonium, substance radioactive.

En 2006, Alexandre Litvinenko, un ex-officier des services secrets russes, est empoisonné à Londres par une substance radioactive (Figure 9), le polonium.

1.2. Quelques définitions autour de la toxicologie

Mettre en évidence les poisons et connaître leurs effets sur l'organisme, c'est le fondement de la toxicologie. L'adjectif médico-légal qualifie tout ce qui est relatif à la médecine légale. En toxicologie médico-légale, la priorité est donnée à l'identification et à la quantification de l'éventuel toxique présent

dans le corps. Le précurseur de la toxicologie, Paracelse (Figure 10), a déclaré dans les années 1500 que « **Tout est poison, rien n'est poison, seule la dose fait le poison** ». Cette phrase est encore d'actualité aujourd'hui, notamment avec les nombreux médicaments existants.

Pour l'Institut National de Police Scientifique (INPS), il s'agit d'effectuer les examens et analyses des traces et indices relevés au cours de l'enquête en vue d'exploiter des éléments matériels de preuve dans le domaine pénal à la demande des magistrats, des services de police ou de gendarmerie. La toxicologie médico-légale est sollicitée pour la recherche des causes de la mort mais également si la victime n'est pas décédée (y a-t-il eu empoisonnement ?). Pourtant les empoisonnements ne sont pas le seul cadre. En effet, la recherche de substances ayant pu modifier le comportement d'un individu est de plus en plus fréquente que ce soit en matière



Figure 10

« Tout est poison, rien n'est poison, seule la dose fait le poison », Paracelse.

QUELQUES DÉFINITIONS

(tirées du dictionnaire Larousse)

Toxicologie

Science traitant des substances toxiques, de leurs effets sur l'organisme et de leur identification.

Médico-légal

Relatif à la médecine légale. Qui a pour objet de faciliter la découverte de la vérité par un tribunal civil ou pénal (*expertise médico-légale*) ou de préparer certaines dispositions légales, réglementaires ou administratives (*certificat médico-légal*).

de sécurité routière ou en cas de suspicion de soumission chimique.

2 L'apport de la chimie analytique à la toxicologie médico-légale

Mathieu Orfila (1787-1853) (*Figure 11*), qui était à la fois médecin-légiste et chimiste, fut le premier à appliquer à la toxicologie les techniques de la chimie analytique afin de mettre en évidence les poisons lors d'homicides soupçonnés d'être survenus par empoisonnement.

2.1. Les progrès fulgurants de la chimie analytique

À l'époque, les techniques analytiques étaient assez rudimentaires, basées essentiellement sur des réactions colorées. Aujourd'hui elles ont considérablement évolué, tant sur la sensibilité

que la rapidité des analyses (*Figure 12*). Lors des analyses sanguines, les concentrations recherchées sont de l'ordre du nanogramme par litre. Pour donner une image, cela correspond à la dilution d'un morceau de sucre dans une piscine olympique... et il faut mettre en évidence la présence de ce sucre !

2.2. La toxicologie au sein de l'INPS

Au sein de l'INPS (*Figure 13*), la toxicologie est la seconde activité quantitative après la biologie. En 2013, 53 % des analyses hors génétiques ont été faites en toxicologie, et parmi ces dossiers, 92 % étaient directement liées à la sécurité routière. Dans ce domaine, on attend de l'INPS des résultats extrêmement rapides, notamment lorsqu'interviennent des gardes à vue, puisque celles-ci sont limitées



Figure 11

Mathieu Orfila (1787-1853), médecin chimiste, pionnier de la toxicologie médico-légale.



Figure 12

La chimie analytique a connu des progrès fulgurants en moins d'un siècle grâce notamment à la chromatographie, la spectrométrie de masse et leur couplage.

Figure 13

La toxicologie est la deuxième activité quantitative de l'Institut national de police scientifique (INPS).



à 24 heures prolongeables à 48 heures. De façon générale, la toxicologie est de plus en plus sollicitée par les Officiers de Police Judiciaire (OPJ) et les magistrats.

2.3. La sécurité routière dans la ligne de mire

Les dossiers de sécurité routière (Figure 14) sont pour la toxicologie des dossiers relativement faciles puisqu'il s'agit de recherches ciblées. Généralement, il est demandé de rechercher l'éthanol et/ou les produits stupéfiants dans le sang de victimes ou de mis en cause impliqués dans des accidents matériels, corporels ou mortels, mais aussi arrêtés lors de contrôles routiers. Le but est de savoir si leur comportement a pu être altéré par une de ces substances.

Au sein des laboratoires de l'INPS, la détermination de l'alcoolémie doit être effectuée en moins de trois jours, la recherche des stupéfiants en moins de dix jours. Ces délais sont bien sûr réduits si les résultats doivent être rendus dans le délai de la garde à vue.

Le produit stupéfiant le plus consommé en France est le cannabis. Son principe actif est le THC (Δ -9-

Tétrahydrocannabinol), mais d'autres cannabinoïdes² vont également être recherchés. Il s'agit des métabolites du THC, l'OH-THC (11-hydroxy- Δ -9-THC) et le THCCOOH (acide 11-nor- Δ -9-THC carboxylique). En effet, après absorption d'une substance étrangère, le corps cherche à s'en débarrasser et pour cela, peut la modifier, par exemple pour la rendre hydrophile afin qu'elle s'élimine dans les urines. Ces produits modifiés sont appelés métabolites. Les métabolites peuvent rester dans le sang plus longtemps que le principe actif et doivent donc être recherchés afin de prouver une consommation de stupéfiants relativement ancienne.

Parmi les autres produits stupéfiants recherchés classiquement dans le cadre de la sécurité routière peuvent être cités les opiacés (morphine, héroïne...), les cocaïniques (cocaïne et ses métabolites) et les amphétaminiques (amphétamine, méthamphétamine, MDMA qui est le principe actif de l'ecstasy...).

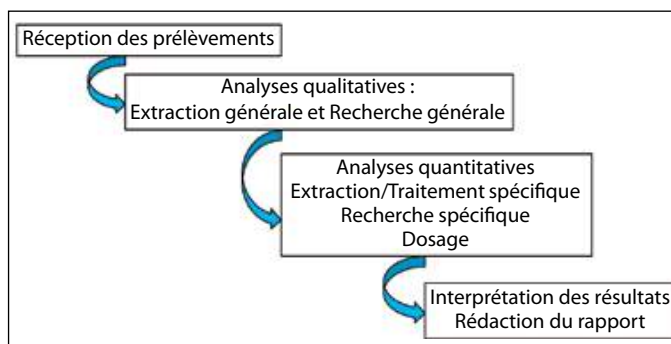
2. Les cannabinoïdes sont des substances d'origine végétale, animale, humaine ou synthétique agissant sur les systèmes nerveux et immunitaire.



Figure 14

92 % des dossiers de toxicologie de l'INPS sont relatifs à la sécurité routière.

Toutefois, il arrive que même dans le cadre de la sécurité routière, les enquêteurs demandent également une recherche de médicaments, notamment les benzodiazépines, qui ont pu endormir le responsable ou la victime d'un accident, même s'il n'est actuellement pas interdit de conduire après la consommation de ces médicaments (une mention sur les boîtes de ces médicaments signale cependant que conduire est déconseillé après leur consommation).



tation des résultats obtenus et de la rédaction des rapports envoyés au requérant.

Figure 15

Stratégie analytique.

3 L'analyse des échantillons

3.1. Processus général

Dans la grande majorité des dossiers, la liste des substances à rechercher n'est pas connue, ce qui complique les analyses. Il va donc être nécessaire d'effectuer une recherche qualifiée de générale pour retrouver le plus de médicaments et le plus de toxiques possible.

La stratégie analytique appliquée est la suivante (Figure 15) : après réception des prélèvements qui peuvent être autres que du sang, des analyses qualitatives, c'est-à-dire des recherches générales pour trouver le maximum de xénobiotiques, sont effectuées. Si une substance médicamenteuse ou toxique est détectée, un dosage doit alors être réalisé. Ces analyses quantitatives sont exécutées au moyen de techniques spécifiques à la molécule recherchée. La dernière étape est celle de l'interpré-

3.2. Quelles substances ?

Nombreuses sont les substances étrangères à l'organisme qui sont absorbées dans notre société moderne (Figure 16). Quelle que soit leur utilisation première, elles peuvent être détournées et provoquer des intoxications.

Ont déjà été mentionnés l'éthanol (Figure 16A) et les produits stupéfiants qui sont recherchés de façon quasi-systématique dans le cadre de la sécurité routière.

Mais si l'éthanol est le chef de file des substances volatiles, d'autres solvants tels que le méthanol peuvent également être absorbés. Des produits gazeux peuvent se révéler dangereux : hydrocarbures, « poppers » (molécules utilisées dans le milieu festif, notamment gay), monoxyde de carbone (des intoxications au monoxyde de carbone dues à des poêles défectueux se produisent encore aujourd'hui), cyanures, certains anesthésiques comme le gaz hilarant (protoxyde d'azote).



Figure 16

A) L'éthanol est usuellement recherché, notamment dans les cas d'accidents de la route ; B) les médicaments (psychotropes, anxiolytiques, antidépresseurs...) font également l'objet de recherches de routine ; C) les produits ménagers sont responsables d'un certain nombre d'accidents par intoxication ; D) des végétaux tels que l'amanite-tue-mouche peuvent également être à l'origine d'intoxications.

Les médicaments sont les substances les plus fréquemment retrouvées (**Figure 16B**) : les psychotropes, régulièrement détectés dans les cas de suicides car la victime est alors déjà psychologiquement fragile et dispose souvent de médicaments antidépresseurs ou anxiolytiques chez elle, les anticonvulsivants, les analgésiques – la morphine est classique mais d'autres produits peuvent malencontreusement provoquer des décès non suicidaires –, les cardiotropes, les anesthésiques, etc.

Dans de nombreux logements, il est possible de trouver des pesticides et des produits ménagers (**Figure 16C**). Des accidents, notamment avec de jeunes enfants buvant ce type de produits, surviennent malheureusement, mais suicides ou tentatives de suicide ne peuvent être écartés.

Les produits précédemment cités ont souvent pour principe actif des molécules organiques, mais il ne faut pas oublier les molécules inorganiques tels que les métaux. Si l'arsenic était très en vogue dans les années 1800, il est moins souvent à l'origine d'intoxications aujourd'hui ; toutefois, il faut surveiller la présence de métaux comme le plomb, le mercure ou le

lithium – qui est aussi un médicament du traitement de la maladie bipolaire –, ou encore le strontium. Celui-ci est particulièrement intéressant pour les enquêtes de noyade parce que son dosage dans le sang permet de déterminer si une personne retrouvée dans l'eau est morte noyée ou si elle était morte avant d'être mise dans l'eau.

Enfin, même si peu d'affaires de ce type ont lieu à Paris, il ne faut pas oublier les intoxications aux végétaux (**Figure 16D**).

3.3. Dans quels prélèvements biologiques ?

Les prélèvements biologiques sur lesquels peut travailler le toxicologue sont nombreux et présentent tous un intérêt particulier (**Figure 17**).

Le milieu le plus important pour les toxicologues est le sang. En effet, c'est le seul prélèvement qui permette de relier les dosages effectués à une interprétation, c'est-à-dire la concentration sanguine d'un toxique à un effet. Cette concentration peut être thérapeutique (faible), toxique (moyenne), ou encore létale (forte). Il existe deux types de sangs : le sang périphérique prélevé lors d'une prise

de sang par exemple, et le sang cardiaque prélevé sur des cadavres par le médecin légiste. Si les deux types de prélèvements sont fournis, il est préférable d'effectuer la quantification sur le sang périphérique pour éviter certains phénomènes post-mortem pouvant fausser les résultats des dosages.

L'urine est un prélèvement facile à faire à condition que la vessie soit pleine. Son principal intérêt est de fournir une fenêtre de détection des xénobiotiques beaucoup plus large que le sang, l'élimination des substances s'effectuant dans l'urine.

Lors d'une autopsie, le médecin légiste prélève des morceaux de viscères : cœur, poumon, foie, rate, rein, cerveau. La bile, le contenu gastrique et l'humeur vitrée complètent ces prélèvements. Si auparavant les organes étaient prélevés entièrement, désormais des échantillons d'environ trente grammes suffisent pour réaliser les analyses toxicologiques. Ces quantités sont considérées comme importantes et permettent de mettre en évidence de très faibles concentrations de toxiques. De plus, certaines substances peuvent se fixer plus particulièrement sur un organe ; par exemple, les cardiotropes se retrouvent préférentiellement dans le cœur, et le métabolite de l'héroïne dans la bile. Ainsi, selon la substance recherchée, il peut être intéressant d'analyser plus spécifiquement tel ou tel prélèvement autopsique.

La salive est à l'heure actuelle peu utilisée en laboratoire, mais son analyse se déve-

loppe peu à peu. Par contre, elle est très utilisée pour le dépistage de stupéfiants en bord de route.

Un domaine très intéressant pour l'analyste, et qui se développe depuis plusieurs années, est l'analyse des phanères. Les phanères incluent les cheveux, les poils et les ongles. Une fois le médicament ou le toxique entré dans un phanère, il y reste jusqu'à ce que le phanère en question soit jeté ou détruit. Leur stockage et la fenêtre de détection dans ces milieux sont quasi-infinis. La preuve en est que des recherches ont été effectuées sur les cheveux de Napoléon. Les cheveux présentent un intérêt supplémentaire puisque leur analyse permet d'effectuer une datation, au moins approximative. En effet, la vitesse de pousse d'un cheveu est d'environ un centimètre par mois. Si on trouve un produit à trois centimètres du cuir chevelu, c'est donc qu'il a été absorbé environ trois mois auparavant. On peut aussi, grâce à l'analyse de cheveux, différencier une prise unique d'une consommation chronique.



Figure 17

Divers prélèvements possibles dans le corps (sang, urine, viscères...) sont stockés sous forme d'échantillons pour les analyses.

3.4. L'extraction

L'analyste se doit de rechercher de très nombreux produits (médicaments ou toxiques) dans une grande variété de milieux biologiques. Ceux-ci sont particulièrement complexes et leurs constituants – cellules, protéines, acides gras, urée, etc. – vont gêner le toxicologue dans sa recherche de xénobiotiques. L'analyse est donc précédée d'une phase de purification dite phase d'extraction.

La **Figure 18** schématise le principe de l'extraction liquide-liquide, un type d'extraction parmi d'autres. Les tubes contiennent du sang ; sont schématisés en rouge les médicaments et les toxiques, et en vert et bleu les produits interférents (par exemple les acides gras ou le cholestérol). Pour extraire les toxiques, un solvant organique non miscible au sang est ajouté. Après agitation, les deux phases sont séparées. Si le médicament ou le produit toxique a davantage d'affinité pour le solvant que pour la phase aqueuse (sang), il reste dans la phase organique qui est alors récupérée puis concentrée afin de diminuer les

limites de détection (détection d'une concentration plus faible de xénobiotiques). L'opération est optimisée par sélection de la phase organique ou par ajustement du pH du sang par exemple. *In fine*, l'extrait est contenu dans quelques microlitres et peut être analysé.

3.5. L'analyse par chromatographie, spectrométrie de masse et screening

3.5.1. La chromatographie

L'extrait obtenu peut encore contenir divers produits, et notamment plusieurs médicaments ou stupéfiants. Les différents constituants sont séparés, généralement par des techniques chromatographiques. La chromatographie utilise deux phases : une phase stationnaire fixe située dans une colonne et une phase mobile qui passe à travers la colonne. Si la phase mobile est gazeuse, il s'agit de chromatographie gazeuse. Avec une phase mobile liquide, il s'agit de la chromatographie liquide.

Sur la **Figure 19**, les différents types de toxiques contenus

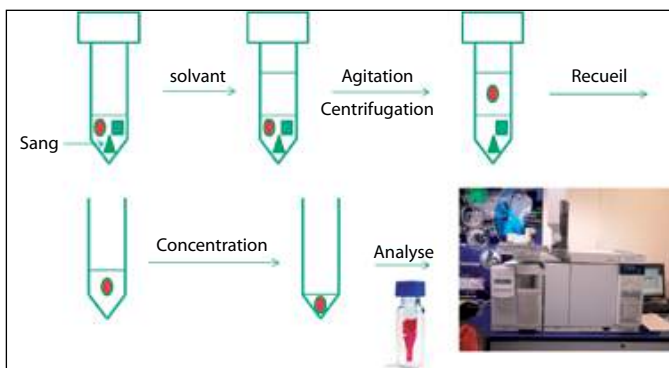


Figure 18

Principe de l'extraction.

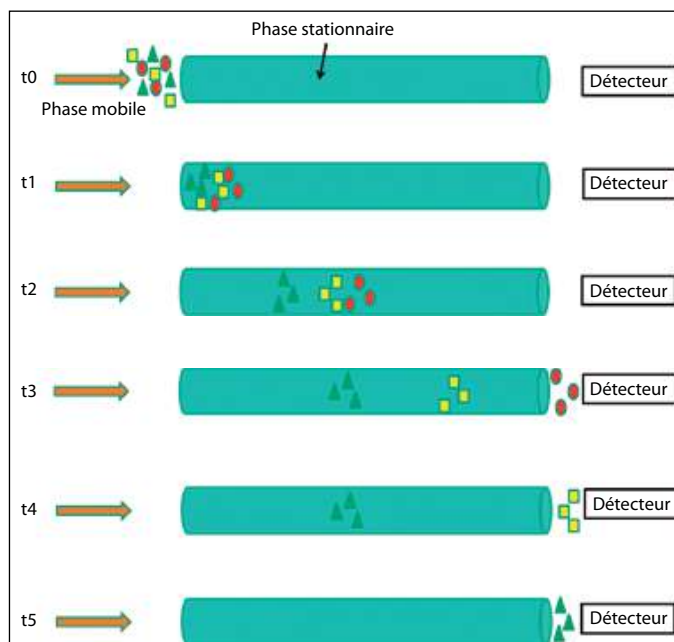


Figure 19

Principe de la chromatographie : les constituants du mélange sont séparés par différence de rétention sur une phase stationnaire, entraînés par une phase mobile. Le temps de rétention est caractéristique du composé.

dans l'extrait sont représentés en rouge, jaune et vert. Après introduction du mélange en début de colonne (injection à t0), ces derniers sont poussés sur la phase stationnaire par la phase mobile. Suivant l'affinité des produits pour ces deux phases, ils vont rester plus ou moins longtemps dans la colonne et donc se séparer au fil du temps (t1 et t2). Au moment t3, le toxique rouge sort de la colonne ; t3 correspond au temps de rétention du toxique rouge. La durée t4 correspond au temps de rétention de la substance jaune et t5, celui de la substance verte. Les temps de rétention sont caractéristiques des composés.

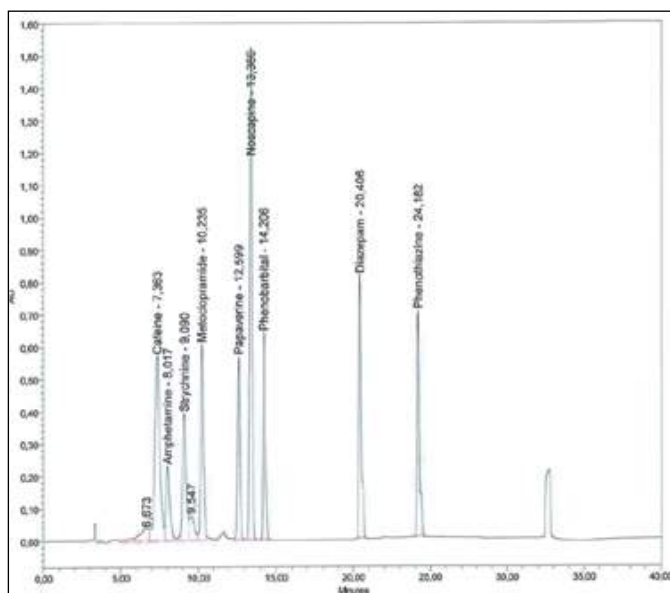
La **Figure 20** donne un exemple de chromatogramme, enregistrement représentant l'abondance (axe des ordonnées) des produits détectés

en fonction du temps (axe des abscisses) sous forme de pics.

Par exemple, le diazépam, une benzodiazépine principe actif du Valium®, a un temps de rétention de 20,4 minutes. La famille des benzodiazépines contient de nombreuses substances de structures similaires, toutes étant susceptibles de composer un médicament. De ce fait, leur affinité pour les différentes phases est proche et leurs temps de rétention risquent fort d'être très voisins. Ce paramètre seul n'est donc pas suffisant pour identifier de façon certaine le produit. Il est donc nécessaire d'utiliser en complément des détecteurs spécifiques qui apporteront des informations supplémentaires sur la structure chimique de la substance et permettront une caractérisation complète.

Figure 20

Le chromatogramme est un graphe qui fait apparaître des pics caractéristiques des constituants du mélange analysé.



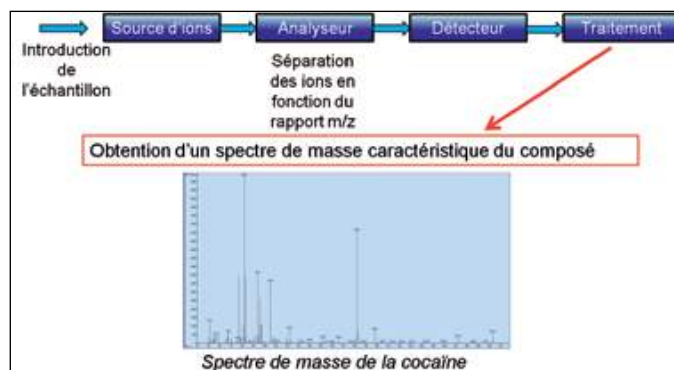
3.5.2. La spectrométrie de masse

En toxicologie, le détecteur le plus utilisé est le spectromètre de masse. Le principe de cette technique est résumé sur la **Figure 21** : après avoir été séparée par chromatographie, la substance sort de la colonne et entre dans une source d'ions. Elle va alors être ionisée et les ions

produits sont ensuite séparés dans l'analyseur en fonction de leur rapport masse sur charge. La plupart des médicaments étant de petites molécules, leur charge est souvent égale à 1. Un détecteur permet de recueillir les ions et après traitement du signal, un spectre de masse caractéristique du composé est obtenu.

Figure 21

Principe de la spectrométrie de masse et obtention d'un spectre de masse (ici, la cocaïne).



La **Figure 21** correspond au spectre de masse de la cocaïne. Il comporte plusieurs pics, alors que la cocaïne est une molécule unique de structure connue et de masse égale à 303, ion moléculaire qui est présent sur le spectre de masse. Mais d'autres ions de masses plus faibles sont également identifiés. En fait, dans la source d'ions, la molécule va se fragmenter, elle peut par exemple perdre le groupe $\text{O}-\text{CH}_3$ et donner un ion à 272, ou se fragmenter plus

avant et donner un ion à 182, etc. (Figure 22). Le spectre de masse du produit est constitué non seulement de l'ion moléculaire (correspondant à la masse de la substance), mais également des différents ions fragments. Les masses de ces ions, mais également leurs abondances relatives, sont caractéristiques de la substance et permettent son identification.

La Figure 23A montre un chromatogramme obtenu en chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Il est possible d'obtenir le spectre de masse du pic dont le temps de rétention est de 20,4 minutes par exemple

(Figure 23B). Il s'agit alors du spectre d'une substance inconnue.

Pour identifier la substance, le logiciel a recours à des bibliothèques de spectres et effectue une comparaison entre le spectre inconnu et ceux des bibliothèques. Ici, le spectre est identique à celui du diazépam (Figure 24).

Ainsi, le temps de rétention et le spectre de masse de notre substance inconnue permettent de l'identifier : il s'agit du diazépam. Lors des analyses toxicologiques, chaque pic chromatographique et le spectre de masse correspondant sont analysés afin de mettre en évidence les

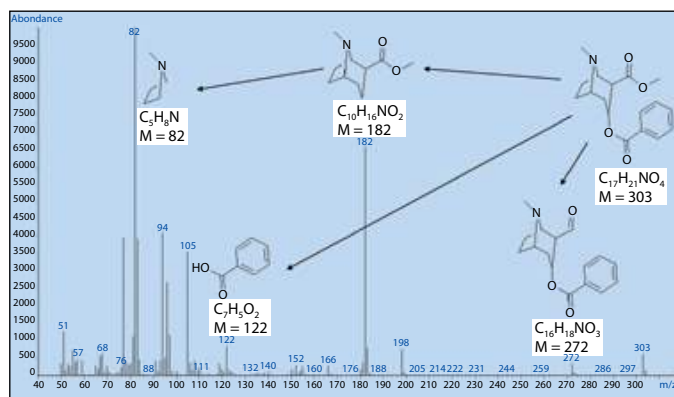


Figure 22

Interprétation détaillée du spectre de masse de la cocaïne.

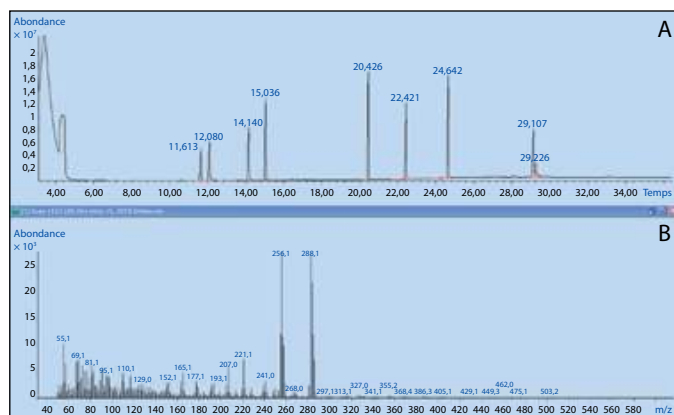


Figure 23

A) Chromatogramme en mode scan en CPG/SM (couplage chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse) ; B) spectre de masse inconnu en mode scan.

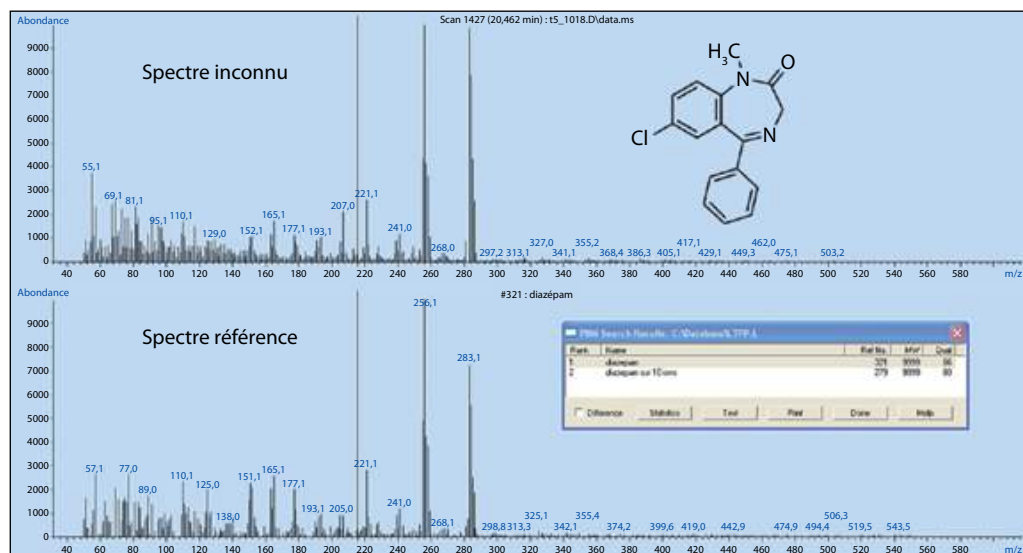


Figure 24

Le screening : la comparaison avec les spectres de la bibliothèque permet d'identifier le composé inconnu (exemple du diazépam).

xénobiotiques éventuellement contenus dans les prélèvements effectués sur la victime ou le mis en cause.

4 Dans la pratique : trois exemples de cas réels

4.1. Empoisonnement non léthal

Une jeune femme a un rendez-vous dans un restaurant avec un homme rencontré sur Internet. En retard, elle lui demande donc de commander son repas. Quand elle arrive, le repas, la boisson et le café sont effectivement servis. Elle mange et à la fin du repas, lorsqu'elle veut boire son café, il est malheureusement froid. Elle n'a donc pas très envie de le boire. Sauf que le jeune homme avec qui elle a rendez-vous insiste : elle en prend donc quelques gorgées. Cela a lieu à 13 heures. Quinze minutes plus tard, elle

ressent une sensation de soif, une sécheresse buccale, elle a des vertiges, des maux de tête et des difficultés à marcher. Elle est dans la rue et des gens appellent donc les pompiers qui interviennent et l'emmènent à l'hôpital. Lorsqu'elle arrive à l'hôpital, elle tient des propos incohérents et a ses pupilles en mydriases (état de dilatation anormale de la pupille).

À l'hôpital, des premières analyses sont effectuées : rien d'anormal n'est mis en évidence. En revanche, le médecin qui s'occupe du dossier évoque, en se basant sur les symptômes ressentis, une possible intoxication atropinique de type Datura (le Datura est une plante, [Figure 25](#)). Ne pouvant confirmer cette intoxication à l'hôpital, le laboratoire est sollicité par un officier de police judiciaire pour analyser les prélèvements hospitaliers avec des techniques sensibles.

Avec la réquisition nous sont fournis des prélèvements sanguins et urinaires prélevés à 19 heures le premier jour (S1 et U1), environ 6 heures après les faits, et des prélèvements plus tardifs prélevés vers 22 heures le deuxième jour (S2 et U2). La première analyse consiste en de la chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Dans le sang du premier jour (S1), rien n'est mis en évidence ; dans l'urine correspondante (U1), de la scopolamine est détectée. Dans les prélèvements plus tardifs est décelée de l'hydroxyzine dans le sang (S2) et les urines (U2). Le métabolite de l'hydroxyzine, la cétirizine, est également présente dans les urines (U2).

Le chromatogramme de l'urine du premier jour (U1) est reproduit sur la **Figure 26**. De très nombreux pics sont présents, et les grands sont souvent soit des dérivés du cholestérol, soit des acides gras : ils ne sont donc pas intéressants. En zoomant sur la partie cerclée de rouge, il est possible de voir le pic correspondant à la scopolamine. Il faut savoir que chaque pic, même les petits comme celui de la scopolamine, sont exploités. Ainsi, le dépouillement des chromatogrammes nécessite un temps non négligeable – les résultats ne peuvent pas être rendus en trois quart d'heures comme cela se passe dans la série télévisée *Les Experts* ! L'attribution du pic à la scopolamine est confirmée par le spectre de masse (**Figure 27**) comparé au spectre fourni par la bibliothèque (**Figure 28**).

Afin de détecter un maximum de xénobiotiques, il est nécessaire d'effectuer suite à la chromatographie gazeuse, une chromatographie liquide. En effet, certaines substances, notamment les substances qui ne se volatilisent pas même à fortes températures, ne peuvent pas être détectées en chromatographie gazeuse. Ces deux types d'analyses sont donc complémentaires.



Figure 25

Le genre *Datura* est riche en alcaloïdes.

Source : Wikipédia, Licence CC-BY-SA-3.0, Jeantosti.

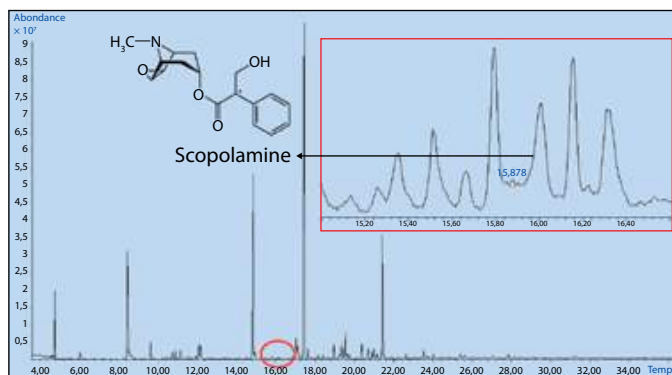


Figure 26

Chromatogramme CPG/SM mode scan de l'urine du 1^{er} jour (U1) mettant en évidence de la scopolamine.

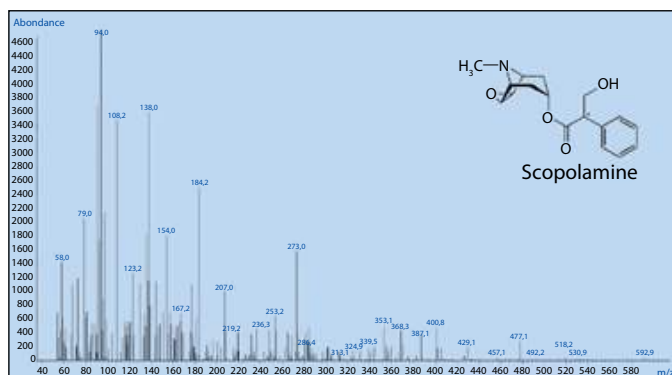
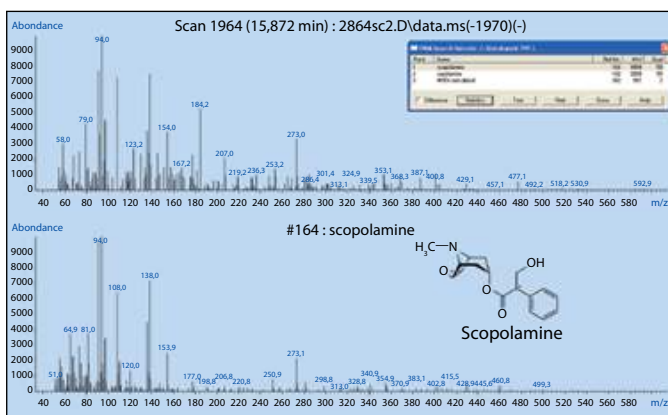


Figure 27

Spectre de masse de la scopolamine.

Figure 28

Comparaison du spectre de la scopolamine de l'urine du 1^{er} jour.



En chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse en tandem (CLHP/SM/SM), la scopolamine est mise en évidence dans le sang et les urines du premier jour (S1 et U1). Notons qu'en chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM), cette molécule n'avait pas été détectée dans le sang S1. Ainsi, la technique CLHP/SM/SM est plus sensible, du moins pour cette substance. Dans les prélèvements effectués le deuxième jour (S2 et U2), l'hydroxyzine et la cétirizine sont retrouvées, ainsi que la scopolamine dans l'urine U2.

Le cheminement pic inconnu sur le chromatogramme-spectre inconnu-comparaison avec la bibliothèque-identification est similaire à celui déjà évoqué en CPG/SM (Figure 29).

La recherche générale ayant été effectuée et les différentes substances identifiées, il est alors nécessaire de passer à l'étape de quantification. Des

extractions et des analyses spécifiques à chaque produit sont réalisées afin d'obtenir les meilleurs niveaux de sensibilité. Ici, les dosages de scopolamine, hydroxyzine et cétirizine ont été effectués en CLHP/SM/SM avec une même extraction ; les résultats sont présentés sur la Figure 30A. L'aire de chaque pic est mesurée et est directement reliée à la quantité de produit. Le dosage est donc réalisé grâce à des courbes d'étalonnage (surface du pic = f(quantité du produit), Figure 30B).

Le Tableau compile les différents résultats obtenus. Dans les prélèvements du premier jour, seule la scopolamine est retrouvée, que ce soit dans le sang (S1) ou dans l'urine (U1). Notons que la concentration urinaire est nettement plus importante que celle du sang. Les prélèvements du deuxième jour, S2 et U2, contiennent de l'hydroxyzine et son métabolite, la cétirizine. L'urine U2 contient également de la scopolamine mais à une concentration plus

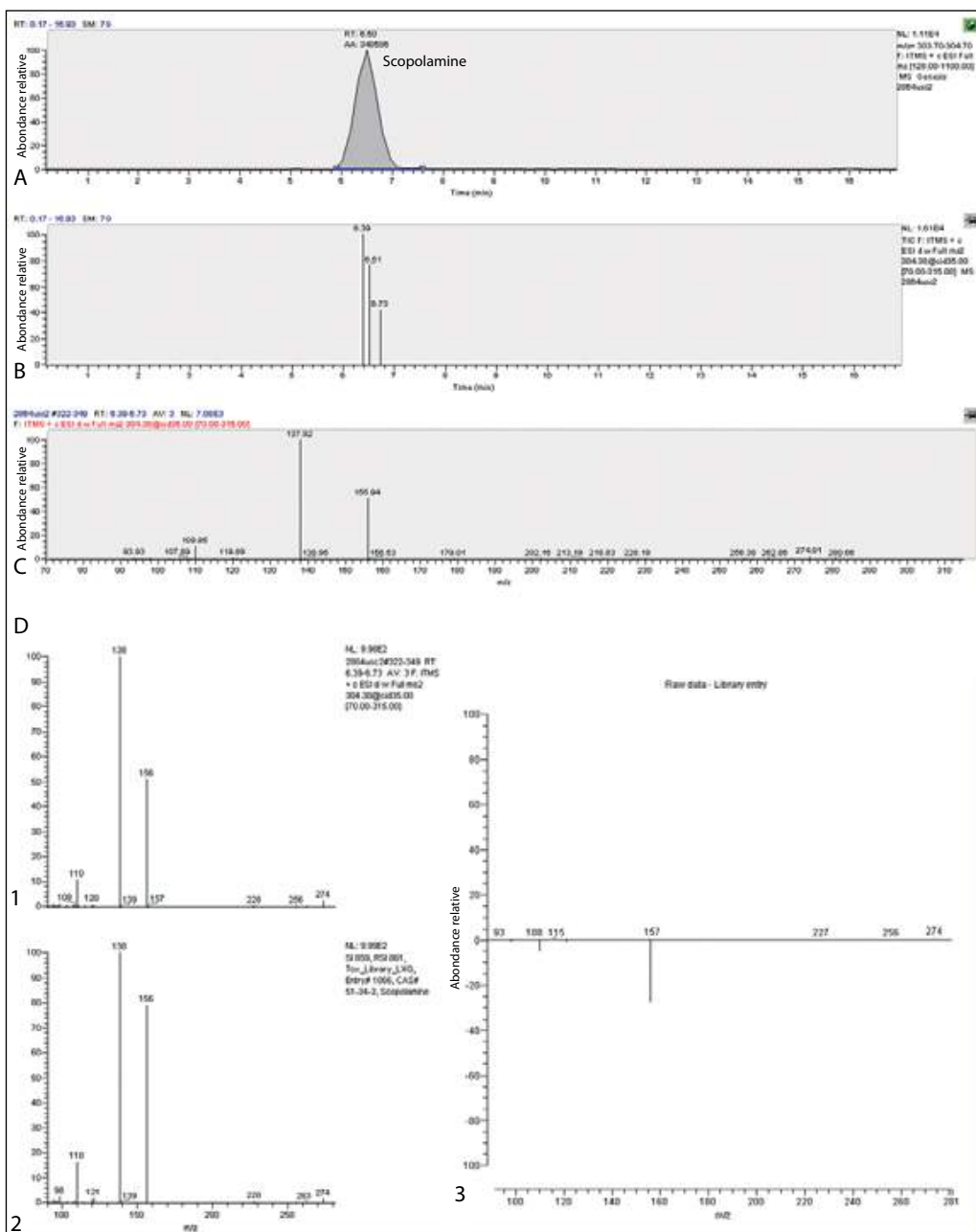


Figure 29

Résultats du screening ciblé en CLHP/SM/SM pour la scopolamine. A) chromatogramme obtenu en CLHP/SM ; B) chromatogramme obtenu en CLHP/SM/SM ; C) spectre MS² ; D) comparaison du spectre inconnu [1] à celui de référence [2] et soustraction de ces deux spectres [3].

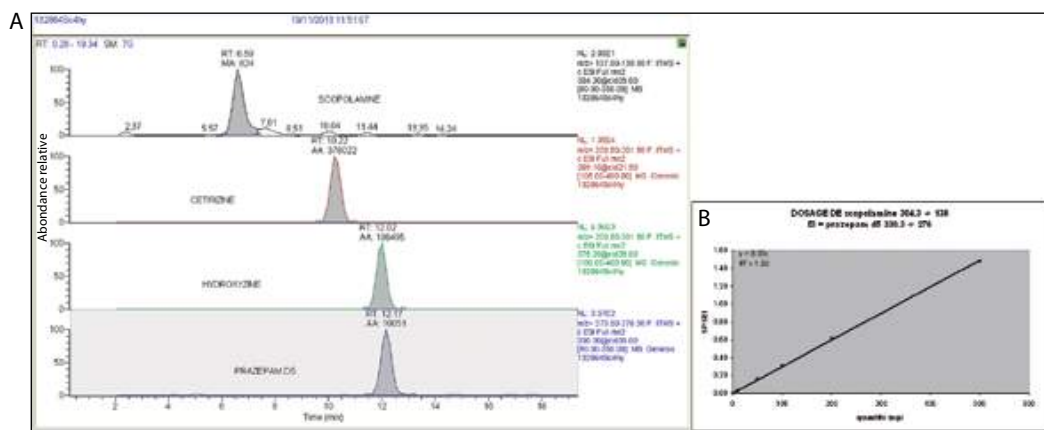


Figure 30
Dosages en CLHP/SM/SM.

faible que celle du premier jour (U1). Cette substance est d'ailleurs non détectée dans le sang S2. Cela s'explique par le processus d'élimination de ce xénobiotique, d'où son absence dans le sang S2 et sa faible concentration dans l'urine U2.

La dernière étape consiste en l'interprétation de ces résultats. L'hydroxyzine est apparue entre les deux séries de prélèvements, elle a donc

été donnée à la victime après les premiers prélèvements et donc après les faits. Elle n'est de ce fait pas responsable de l'intoxication. Cette molécule, principe actif du médicament Atarax®, a probablement été prescrite à la victime pour ses propriétés anxiolytiques et antihistaminiques.

La scopolamine est en revanche beaucoup plus intéressante. En effet, elle ressemble structurellement

Tableau

Récapitulatif des résultats. La scopolamine ressemble à l'atropine. C'est un anticholinergique présent en grande quantité dans le *Datura* entre autres plantes. On observe la disparition de la scopolamine dans le sang et les urines (élimination en cours), et l'apparition de l'hydroxyzine après les premiers prélèvements (absorption après les faits d'Atarax®, médicament anxiolytique et antihistaminique).

	Substances identifiées	Milieux	Concentrations
Prélèvements effectués le premier jour	Scopolamine	Sang	3,2 µg/L
		Urine	> 1000 µg/L
Prélèvements effectués le deuxième jour	Scopolamine	Urine	30,1 µg/L
	Hydroxyzine	Sang	19,3 µg/L
		Urine	> 500 µg/L
	Cétrizine	Sang	6,2 µg/L
		Urine	> 500 µg/L

à l'atropine et a quasiment les mêmes effets ; il s'agit un anticholinergique qui est présent en grandes quantités dans le *Datura*. Elle peut donc tout à fait avoir provoqué les symptômes observés chez la victime.

Cet exemple met en exergue la nécessité de réaliser les prélèvements le plus tôt possible après les faits, afin de limiter l'élimination des xénobiotiques présents dans le sang et les urines des victimes (ou mis en cause dans d'autres cas) au moment des faits et donc d'augmenter les chances pour le toxicologue de les mettre en évidence.

4.2. Analyse de cheveux dans le cas d'une soumission chimique

Voici une situation typique de soumission chimique. Il s'agit d'une femme qui dîne chez un ami. Au cours du repas, elle boit du rhum puis souffre de problèmes de vue, de ver-

tiges et fait un malaise. Elle se réveille le lendemain en sous-vêtements dans le lit de cet ami. Elle n'a aucun souvenir de la nuit donc pense avoir été droguée. Elle porte plainte, mais plusieurs jours après les faits. Les substances qui lui auraient éventuellement été administrées à son insu au moment de l'agression auront donc été éliminées et ne peuvent plus être retrouvées ni dans le sang ni dans les urines. Dernier recours : les cheveux.

Un prélèvement de cheveux est donc effectué au laboratoire (**Figure 31**). La mèche de cheveux est ensuite cousue sur une feuille sur laquelle est indiquée une échelle en centimètre. Cette échelle va servir à déterminer les différents tronçons qui vont être analysés. En effet, il a été vu que les cheveux poussent d'environ 1 cm par mois. Ainsi les substances absorbées le mois précédant le prélèvement devraient se retrouver

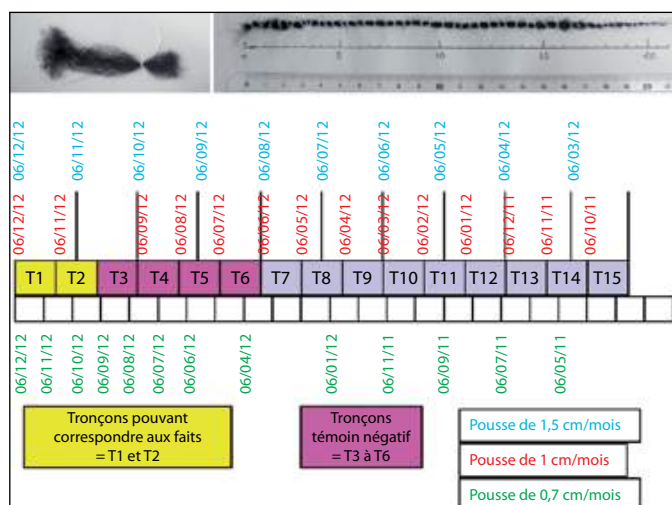


Figure 31

Préparation des cheveux avant analyse.

entre 0 et 1 cm côté racine ; il est possible de remonter de cette façon le long de la mèche. Ici, les tronçons compris entre 0 et 2 cm de la racine (soit T1 et T2) correspondent à la date des faits. Les tronçons suivants (T3 à T6) servent de témoins négatifs indiquant si la victime ne consommait pas de façon régulière un produit éventuellement détecté dans les tronçons des faits.

La **Figure 32** résume les résultats de l'analyse. Du diazépam, une benzodiazépine anxiolytique principe actif du Valium®, a été mis en évidence dans le premier tronçon T1. Du 7-aminoclonazépam, un métabolite du clonazépam, principe actif du Rivotril®, a été détecté dans les deux premiers tronçons (T1 et T2). Le clonazépam est également une benzodiazépine antiépileptique mais également prescrite hors AMM (Autorisation de Mise sur le Marché) comme antidouleur sédatif. Ces benzodiazépines sont connues pour potentiellement provoquer les effets ressentis par

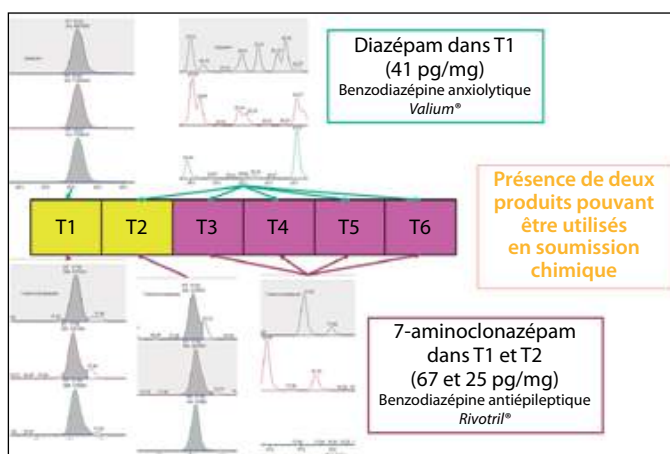
la victime : sédation, étourdissements, amnésie concernant les faits récents. Elles peuvent donc être utilisées en soumission chimique, c'est-à-dire utilisées par des criminels pour endormir et rendre vulnérables de potentielles victimes. Il est donc probable que dans ce cas, la victime ait été droguée à son insu. Toutefois, les enquêteurs doivent s'assurer que ces substances n'ont pas été consommées par la victime de son plein gré ou qu'elles lui aient été prescrites par un médecin.

4.3. Recherche de nouvelles drogues

Un jeune homme marche sur une autoroute dans la nuit, est percuté par une voiture et décède à l'hôpital des suites de l'accident. Lors de l'enquête policière, un de ses amis, qui était avec lui la soirée des faits, est interrogé. Il déclare que la victime avait beaucoup bu et aurait également consommé une substance hallucinogène. Un

Figure 32

L'analyse des cheveux a mis en évidence du diazépam et le métabolite du clonazépam, deux molécules susceptibles d'être utilisées dans le cadre de la soumission chimique.



dépistage urinaire effectué à l'hôpital a mis en évidence la présence de méthamphétamine. La réquisition demande une recherche dans le sang autopsique de la victime de la présence d'alcool, de produits stupéfiants et de médicaments.

Les analyses toxicologiques mettent en évidence uniquement de l'éthanol à une concentration pouvant provoquer un état de légère ébriété. Toutefois, le jeune homme n'étant pas décédé sur le coup, son corps a continué d'éliminer l'éthanol (vitesse d'élimination moyenne : 0,17 g/L/h) ; son alcoolémie au moment des faits devait donc être plus élevée. Du paracétamol à faible teneur a également été mis en évidence, mais cette molécule n'a pas eu d'influence sur le comportement de la victime. En revanche, aucun produit stupéfiant, et notamment la méthamphétamine, n'a été décelé. Cela est donc en contradiction avec le dépistage effectué à l'hôpital. Lors d'un nouveau contact avec le requérant, ce dernier nous informe que selon l'ami interrogé, la substance absorbée aurait été la 2-C-C-NBOMe.

Cette molécule était inconnue au laboratoire et aucune méthode d'analyse n'avait été mise au point. Des recherches bibliographiques sont alors effectuées : elles nous apprennent que la structure

chimique de la 2-C-C-NBOMe est proche de celle de la méthamphétamine, ce qui peut avoir positivé le test urinaire effectué à l'hôpital. Quant à ses effets, les forums Internet d'utilisateurs décrivent des hallucinations visuelles, de la distorsion du son perçu, des frissons extatiques, et évoquent une forte ressemblance avec le LSD (acide lysergique diéthylamide) (**Figure 33**). Pour mettre au point nos méthodes d'analyse et d'extraction, le produit, non disponible en France, a été commandé aux États-Unis. Après la création des méthodes d'analyse spécifique, la 2-C-C-NBOMe ne faisant pas partie de nos bibliothèques, il a fallu l'ajouter afin d'avoir des spectres de référence. Alors seulement, une recherche spécifique de cette substance dans le sang de la victime a pu être effectuée. Et effectivement, la 2-C-C-NBOMe a été mise en évidence à une faible concentration.

Cet exemple montre la nécessité d'avoir des bibliothèques de référence à jour, notamment avec les nouvelles drogues apparaissant sur le marché illicite. Sans cela, les toxicologues ne peuvent les détecter. L'interaction avec les enquêteurs est aussi très importante car elle permet d'orienter les recherches toxicologiques, et les résultats peuvent également donner une nouvelle orientation à l'enquête.

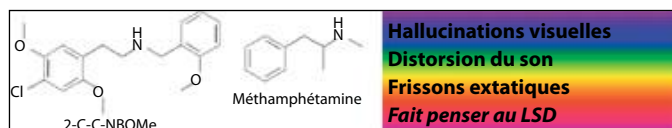


Figure 33

La 2-C-C-NBOMe ressemble à la méthamphétamine.

La chimie analytique au service de la toxicologie médico-légale

Les requérants attendent des laboratoires de toxicologie médico-légale des résultats fiables. Cela passe par l'accréditation des différents laboratoires.

Le rendu des résultats doit également être rapide, ces derniers pouvant orienter voire ré-orienter l'enquête. Pour répondre à cette demande de rapidité, les techniques évoluent avec des extractions en ligne, des chromatographies « fast », une automatisation des analyses...

Par ailleurs, il faut que les limites de détection soient de plus en plus faibles pour mettre en évidence le plus grand nombre possible de produits. Cela peut s'atteindre avec de nouvelles techniques comme la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse haute résolution.

Enfin, il ne faut pas oublier le problème des bibliothèques : elles doivent être mises à jour régulièrement pour pouvoir suivre l'apparition de nouveaux produits notamment stupéfiants.

En conclusion, la chimie analytique n'a pas fini d'aider les enquêtes ni d'améliorer ses performances dans cet objectif.