

L'incorporation des xénobiotiques dans le cheveu

Intérêt en toxicologie judiciaire

Nathalie Milan et Claire Martin

Résumé De nos jours, les matrices biologiques tels le sang et l'urine sont les matrices de prédilection des analystes toxicologues, et la détection et la quantification de traces de xénobiotiques sont un défi quotidien. Moins conventionnelle, l'analyse de cheveux est cependant riche en informations, car elle est complémentaire de ces matrices usuelles dans un large éventail d'applications (soumission chimique, empoisonnement chronique...). Leur mécanisme d'incorporation est de mieux en mieux connu. Toutefois, des interrogations demeurent, par exemple comment différencier une contamination des cheveux d'une consommation avérée, ou encore les inégalités d'un individu à l'autre face à l'incorporation de xénobiotiques dans les cheveux. De nombreuses études récentes tendent à résoudre ces dernières difficultés, et les développements analytiques constituent une des avancées majeures en toxicologie de ces dernières années.

Mots-clés **Criminalistique, analyses de cheveux, mélanine, xénobiotiques, incorporation.**

Abstract **The incorporation of xenobiotics in hair: interest in forensic toxicology**
Nowadays, biological matrix such as blood and urine are samples of preference for toxicology analysts and detection and quantification of xenobiotics traces is a daily challenge. Even less conventional, hair analysis is however rich in information due to its complementarity with blood and urine samples in a wide panel of applications (drug-facilitated drug, chronic poisoning...). The mechanism of xenobiotics incorporation in hair is better and better known. However, some questioning remains such as how to differentiate a contamination of hair from chronic consumption, or disparities from an individual to another regarding xenobiotics binding in hair. A large amount of studies led these past years tend to solve those last difficulties and technology advances in analytical field establish one of the major advances in toxicology of past years.

Keywords **Forensic science, hair analysis, melanin, xenobiotics, incorporation.**

Un peu d'histoire : les cheveux comme matrice biologique

La détection et la quantification de traces de xénobiotiques⁽¹⁾ à partir de matrices biologiques sont un défi quotidien pour les analystes toxicologues. Les domaines d'application sont vastes : expertises toxicologiques, soumission chimique, contrôle antidopage... La majorité de ces analyses est encore réalisée sur les matrices conventionnelles (sang et urine).

La détection de substances étrangères dans les cheveux a débuté il y a de nombreuses années avec les empoisonnements aux métaux. Le premier d'entre eux a été publié en 1858 avec la mise en évidence d'arsenic dans les poils d'une victime, exhumée onze ans après son décès [1]. En 1929, plusieurs cas d'empoisonnement à l'arsenic ont pu être identifiés dans cette matrice [2]. L'analyse de drogues est décrite dès 1954 dans une étude montrant la détection de phéno-barbital dans les poils après administration de cette substance à des cochons d'Inde [3]. Dès le début des années 1980, les premiers travaux allemands et américains ont introduit des méthodes de recherche révolutionnant la fenêtre de détection des xénobiotiques. En France, il faudra attendre le début des années 1990 pour voir les premières applications

de détection des stupéfiants dans les cheveux développées par l'Institut de médecine légale de Strasbourg.

Dès lors, grâce aux avancées remarquables dans les techniques analytiques sensibles, l'analyse de substances dans ce milieu biologique moins conventionnel n'a cessé de se développer.

De nos jours, l'analyse de cheveux pour la détection de drogues et médicaments est reconnue aussi bien par la communauté scientifique que par la justice comme une analyse complémentaire à l'analyse traditionnelle d'urine. Cependant, si les méthodes d'extraction et les techniques analytiques ne posent actuellement plus de problème particulier, la reconnaissance générale repose plus sur l'exactitude d'interprétation des concentrations de substances dans les cheveux et sur la compréhension du mécanisme de leur incorporation. Comment différencier une contamination des cheveux par l'environnement externe des produits qui y ont pénétré *via* la circulation systémique ? Quel est l'effet du sébum et de la sueur et quel est le rôle de la pigmentation du cheveu dans cette incorporation [4] ? Seules des réponses à ces questions permettront une interprétation fiable et précise des résultats. Durant ces trois dernières décennies de l'histoire de l'analyse des cheveux, des études ont donc été menées sur les mécanismes d'incorporation de différentes substances, ainsi que

sur d'autres facteurs influençant la détection des drogues, permettant de mieux comprendre et maîtriser ces mécanismes.

Les cheveux : généralités, structure et pigmentation [5-6]

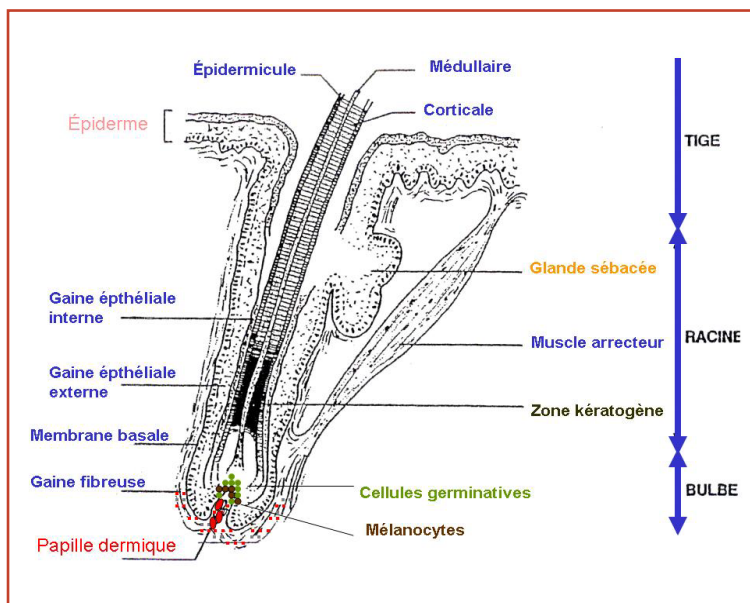


Figure 1 - Coupe d'un cheveu.

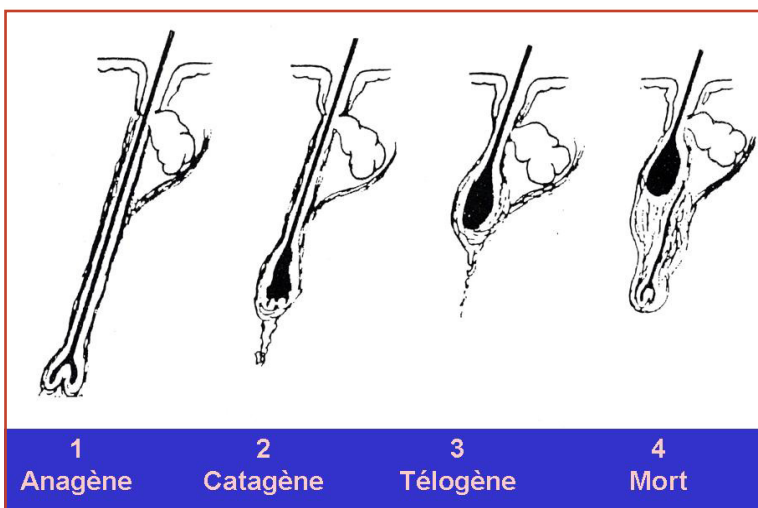


Figure 2 - Étapes de la pousse d'un cheveu.

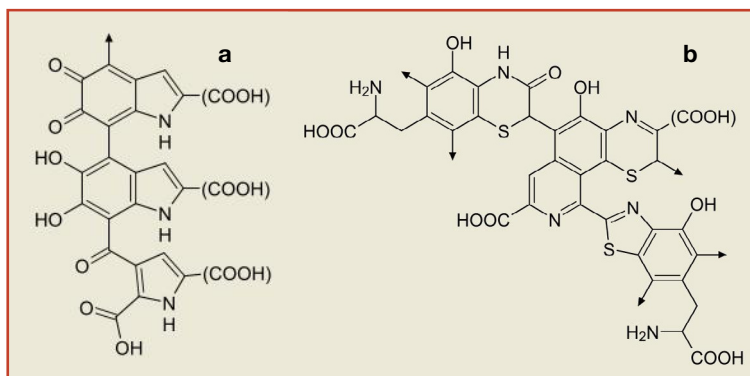


Figure 3 - Structures chimiques de l'eumélanine (a) et de la phéomélanine (b).

La chevelure de l'être humain est composée de 120 000 à 170 000 cheveux. D'un individu à l'autre, la croissance du cheveu peut varier de 0,7 à 1,5 cm par mois. Le cheveu, ou « tige pileaire », est constitué de trois couches distinctes. La cuticule, la couche la plus externe, est formée d'écaillés de minces plaques de protéines (kératines) imbriquées les unes sur les autres. La couche intermédiaire, ou cortex, lui confère sa structure. Solide et résistant, il contient majoritairement des kératines ainsi que la pigmentation qui va donner au cheveu sa coloration. Enfin, la région médullaire, ou « moelle », couche centrale de la tige pileaire, est constituée de protéines différentes de celles de l'écorce. Elle peut cependant être absente des cheveux très fins (figure 1).

Le cheveu prend racine dans le follicule pileux à partir duquel il se développe et croît au cours de trois phases distinctes pour constituer la tige pileaire (figure 2). La première phase, dite « anagène », s'étend entre deux à trois, parfois même jusqu'à sept ans de vie. Chez l'homme, environ 80 à 85 % des cheveux se trouvent dans cette phase. Les capillaires sanguins alimentent le follicule en nutriments, mais aussi en xénobiotiques éventuellement présents dans le flux sanguin.

La phase suivante, dite « catagène », correspond à la régression ou mort cellulaire programmée. C'est une phase de transition rapide qui dure de deux à trois semaines. La division cellulaire cesse et la tige pileaire devient entièrement kératinisée. Enfin, la phase « télogène » ou repos, voire mort du cheveu, d'une durée d'environ trois mois, clôt le cycle. La croissance cesse totalement, la tige pileaire est juste ancrée au follicule par la racine.

La chimie du cheveu : propriétés anatomo-physiologiques [5-7]

Chimiquement, le cheveu est composé de 65 à 95 % de protéines (kératines), de 1 à 9 % de lipides et de 0,1 à 5 % de pigments (les mélanines), ainsi que d'une faible quantité d'éléments traces, de polysaccharides et d'eau.

Le cheveu doit sa pigmentation à la mélanine, qui est un polymère complexe, polyanionique, composé de deux copolymères : l'eumélanine et la phéomélanine. Il existe un grand nombre de types de mélanines différentes dont les caractéristiques, telles que la couleur, la solubilité, le taux d'azote ou de soufre, vont varier en fonction des proportions des deux copolymères. L'eumélanine est un pigment de couleur marron foncé à noir, insoluble en solution acide ou alcaline. Il contient entre 6 et 9 % d'azote, mais une quantité négligeable de soufre (0-1 %). Il est majoritairement constitué d'un polymère à unité monomérique de 5,6-dihydroxyindole (DHI) et acide 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylique (DHICA) (figure 3a).

La phéomélanine est, quant à elle, un pigment jaune à rouge, soluble en solution alcaline et contenant entre 8 et 11 % d'azote et entre 9 et 12 % de soufre. Elle est constituée d'unités benzothiazine dérivées de la cystéinyl-dopa (figure 3b).

Le coloris du cheveu est donc déterminé par deux paramètres : la quantité et le type de mélanines incorporées dans la tige pileaire ; les cheveux bruns ou noirs sont majoritairement composés d'eumélanine, alors que les

cheveux blonds et roux ont une concentration plus importante de phéomélanine.

Voies d'incorporation des xénobiotiques dans les cheveux

Même si le mécanisme d'incorporation des médicaments ou des drogues dans les cheveux n'est toujours pas totalement élucidé, de nombreuses études menées ces dernières années sur cette matrice ont permis de mieux le comprendre [7-8]. Les propriétés chimiques et physiques des substances (lipophilie, pKa) et la structure du cheveu (le pH isoélectrique des cheveux est d'environ 6) influent fortement sur le mécanisme d'incorporation. L'affinité de substances particulières dépend aussi probablement du taux de mélanine, qui est acide (pH 3-5). C'est pourquoi les substances basiques, comme la cocaïne, sont plus aisément absorbées que les substances acides. Plusieurs groupements fonctionnels de la mélanine sont disponibles pour former des liaisons avec les substances, comme des groupes phénoliques, acides carboxyliques, orthoquinones ou indole-amines. Certains auteurs [7] ont émis l'hypothèse que les groupements carboxyliques libres du DHICA (figure 4) pourraient se lier par interaction électrostatique avec les noyaux aminés protonés de certaines drogues basiques.

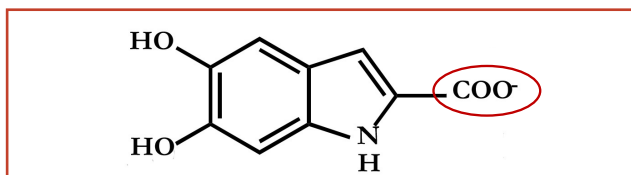


Figure 4 - Structure chimique du DHICA.

L'incorporation des xénobiotiques (substance mère et/ou métabolites) se ferait selon plusieurs voies, la voie principale étant la circulation sanguine qui irrigue le follicule pileux (figure 5). Les xénobiotiques diffuseraient du sang vers les structures kératinisées en croissance du cortex et de la partie médullaire. Ils y demeureraient piégés sans subir de transformation jusqu'à la chute du cheveu.

La seconde voie d'incorporation est externe et en majorité due à la sécrétion sudorale et sébacée, et se fera sur les cheveux humides ou en sueur en train d'émerger du cuir chevelu.

Enfin, une exposition passive des cheveux à la pollution du milieu extérieur (fumée, particules diverses) conduit au dépôt de xénobiotiques sur le cheveu formé.

Inégalité d'incorporation, facteurs physico-chimiques

La basicité des xénobiotiques, leur lipophilie et leur affinité à la mélanine sont des facteurs physico-chimiques importants pour leur absorption et leur distribution dans les organes et les tissus humains. Ce sont ces mêmes facteurs qui influencent probablement leur incorporation et leur fixation dans le cheveu, en particulier pour ce qui concerne leur capacité à pénétrer le follicule pileux et à se lier à la mélanine.

Cette capacité à former des liaisons xénobiotique-mélanine semble quantitativement dépendante du degré d'oxydation de cette dernière ; en effet, les cheveux foncés, à teneur plus importante en eumélanine (qui présente un degré d'oxydation plus élevé que la phéomélanine), retiennent plus fortement les xénobiotiques que les cheveux clairs.

Le caractère basique de la substance et son affinité pour la mélanine doivent être considérés ensemble dans le mécanisme d'incorporation de drogues dans les cheveux. Une modification de la structure chimique influençant le caractère basique et l'état d'ionisation d'une substance aura un impact sur son incorporation. Des auteurs ont examiné l'incorporation d'analogues d'amphétamine dans des cheveux : des substitutions sur le noyau d'amphétamine (1-phényl, 2-propane amino) avec des groupes phénoliques ou acétyles diminuent la basicité de la substance, réduisant ainsi son taux d'incorporation [6]. Une autre étude a permis de classer l'incorporation de vingt substances dans les cheveux selon trois niveaux : haut, moyen et faible. Les substances basiques comme la cocaïne ont une forte incorporation dans le cheveu. De plus, ces substances ont montré une grande affinité pour la mélanine, ce qui conforte l'hypothèse que la liaison à la mélanine est étroitement dépendante de l'incorporation des substances basiques, et de ce fait, les concentrations seront plus importantes dans les cheveux riches en mélanine [9].

La comparaison du comportement de la codéine (base faible) d'une part et celle du phénobarbital (acide faible) d'autre part, montre que la pigmentation du cheveu n'affecte que l'incorporation des bases faibles, sans effet sur les acides faibles [10], en accord avec un nombre important de groupements carboxyles de la mélanine qui permet la formation de liaisons avec des substances basiques [7]. L'état d'ionisation de la substance est également un facteur déterminant le taux d'incorporation. À pH physiologique, la codéine possède des propriétés cationiques capables d'interaction électrostatique avec la mélanine, polymère polyanionique, tandis que le phénobarbital n'a pas cette propriété.

Cependant, l'incorporation de xénobiotique ne peut pas s'expliquer uniquement par son affinité à la mélanine. En effet, comme la lipophilie agit sur la perméabilité membranaire [6], les substances non polaires ou lipophiles seront plus aptes à traverser les membranes cellulaires et à s'incorporer dans le follicule pileux en formation que les substances polaires. De plus, la corrélation entre la lipophilie des substances et leur capacité à s'incorporer dans le cheveu [11-12] est illustrée en modifiant chimiquement l'amphétamine par substitution sur la chaîne carbonée avec des noyaux benzène ou furane, augmentant la lipophilie et de ce fait l'incorporation de l'analogue de l'amphétamine [13]. Donc, il semble bien que ces deux facteurs physico-chimiques – l'affinité à la mélanine et la lipophilie des

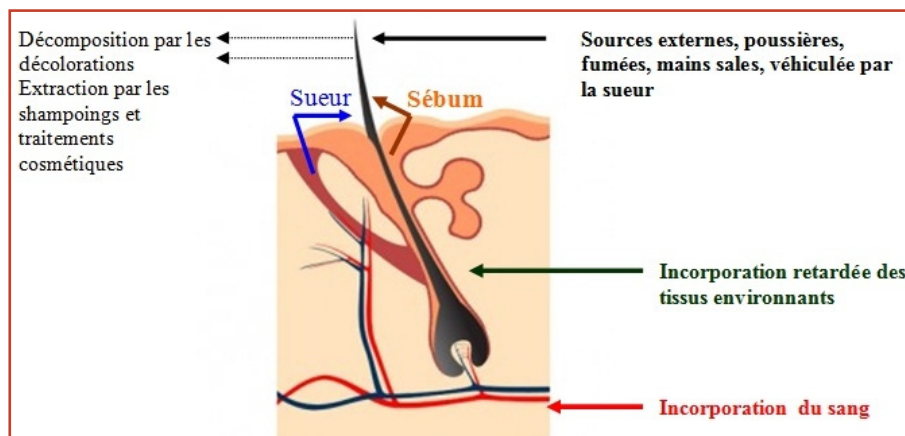


Figure 5 - Voies d'incorporation et d'élimination des xénobiotiques dans le cheveu.

substances – soient essentiels pour comprendre le mécanisme d'incorporation dans les cheveux et leur liaison aux molécules de mélanine et aux lipides membranaires. De nombreuses études ont été menées sur les liaisons xénobiotiques-mélanine *in vivo* et *in vitro*. Les substances ayant la plus grande affinité pour la mélanine sont des accepteurs de protons (substances basiques) comme la cocaïne, contrairement aux substances donneurs de protons (molécules acides) comme l'acide 11-nor- Δ^9 -THC-carboxylique (THC-COOH) [7]. Il a été démontré que des stupéfiants neutres et acides et des métabolites qui interagissent par des forces de van der Waals faibles ont une faible ou aucune affinité à la mélanine. Même si la nature exacte de la liaison drogue-mélanine n'est pas parfaitement comprise, il est très probable que cette liaison se fasse par des interactions électrostatiques faibles et des liaisons ioniques.

Les difficultés d'interprétation [14]

Effet de la couleur des cheveux

La pigmentation de la mélanine jouant un rôle important sur le pouvoir d'incorporation, un problème fondamental d'équité se pose : les dosages seuls ne permettent pas de relier quantitativement ingestion et concentration dans le cheveu, si les caractéristiques physiques du sujet (cheveux clairs ou foncés) ne sont pas prises en compte. Plusieurs études *in vitro* et *in vivo* ont, de plus, examiné l'influence de la pigmentation sur l'incorporation de différents stupéfiants organiques dans les cheveux humains et poils d'animaux, montrant que la relation pigmentation/concentration de stupéfiants est un sujet complexe, dont toutes les variables ne sont pas encore élucidées.

Effet des traitements cosmétiques

Les traitements cosmétiques (coloration, décoloration, permanente, lissage) peuvent affecter également les résultats analytiques en diminuant les concentrations des substances incorporées. Cette diminution peut être de l'ordre de 60 à 70 % pour la cocaïne et ses métabolites, et de 70 à 90 % pour les opiacés. Dans le cas de faibles concentrations, il est donc possible de se trouver en dessous du seuil de détection, même si l'individu a absorbé des drogues. Inversement, les traitements cosmétiques peuvent aussi altérer le cheveu et le rendre plus poreux et de ce fait augmenter l'incorporation

par contamination externe [7]. Il est donc indispensable de connaître tout traitement cosmétique subi par le sujet lors du recueil de ses cheveux, et éventuellement de prélever d'autres poils (pubiens ou axillaires) pour comparaison [9].

Incorporation des substances mères et de leurs métabolites

Les substances mères sont présentes dans les cheveux ou les poils à des concentrations plus élevées que celles de leurs métabolites, alors que les rapports sont généralement inversés dans les urines. En effet, dans la majorité des cas, le métabolisme des drogues et des médicaments mène à une augmentation de l'hydrophilie de la substance. Des métabolites polaires comme la benzoylecgonine, la morphine, sont moins bien incorporés dans le cheveu que leur précurseur lipophile (cocaïne et 6-monoacétylmorphine) ; de la même manière, les antidépresseurs tricycliques et les benzodiazépines comme l'amitriptyline, la clomipramine, la doxépine, l'imipramine et le diazépam s'incorporent mieux que leur métabolite -desméthyl correspondant. Mais ce n'est pas toujours le cas et pour certaines molécules, ce sont les métabolites qui vont préférentiellement s'incorporer dans la fibre capillaire, par exemple pour les nitrobenzodiazépines (clonazépam, nitrazépam, flunitrazépam). Ces dernières possèdent un groupe $-NO_2$ qui a un effet désactivant sur le noyau aromatique et réduit la capacité de celui-ci à effectuer des substitutions électrophiles. Le métabolisme de ces substances va réduire ce radical en groupement amine ($-NH_2$), dont l'azote possède un doublet non liant, lui attribuant un caractère basique et nucléophile, accepteur de proton (figure 6).

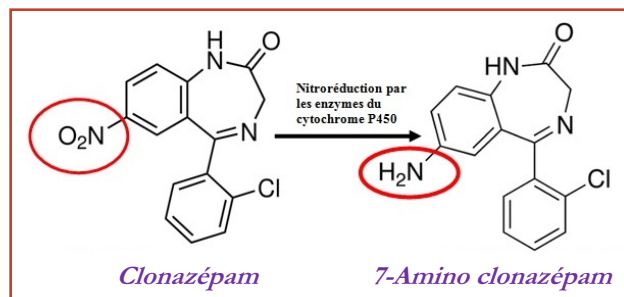


Figure 6 - Métabolisme du clonazépam.

Tableau I - Comparaison des cheveux et de l'urine dans le cadre du contrôle d'une conduite addictive [9].

Paramètres	Urines	Cheveux
Reconnu par la justice	Oui	Oui
Dépistage complet	Oui	Oui
Techniques analytiques	Immunochimie, GLC/MS	ELISA, GLC/MS
Fenêtre de détection	2-5 jours	Plusieurs mois
Adultération	Possible	Très difficile
Recueil	Invasif	Non invasif
Conservation	+ 4 °C ou - 20 °C	Température ambiante
Analyte majeur	Métabolites	Substances mères
Recueil à distance d'un second prélèvement identique	Non	Oui
Type de mesure	Incrémentale	Cumulative
Risque de faux négatifs	Élevé	Faible
Risque de faux positifs	Théoriquement nul	Théoriquement nul

Avantages et inconvénients de l'analyse des cheveux en toxicologie

L'analyse des cheveux présente de nombreux avantages sur les analyses traditionnelles sanguines et urinaires. Le prélèvement est moins invasif et de plus, l'échantillon capillaire n'est pas sujet à l'adultération, comme l'urine par exemple (tableau I). En effet, l'urine peut être diluée par la consommation excessive de liquide, substituée avec de l'urine d'une autre origine, voire synthétique, ou falsifiée par l'ingestion de boissons de désintoxication. L'échantillon de cheveux ne se décompose pas comme le font des liquides ou d'autres tissus biologiques et sa stabilité dans le temps est remarquable. Il a ainsi été possible d'identifier de la cocaïne dans les cheveux de momies péruviennes vieilles de plusieurs centaines d'années, témoignant



Figure 7 - Prélèvement d'une mèche de cheveux.

Tableau II - Seuils de positivité des stupéfiants recommandés par la SoHT [9].

Stupéfiants	Seuils de positivité
Héroïne	0,2 ng/mg de 6-monoacétylmorphine
Cocaïne	0,5 ng/mg de cocaïne et 0,05 ng/mg de benzoylecgonine et/ou de cocaéthylène
Amphétamine, MDMA	0,2 ng/mg pour chaque composé
Cannabis	0,1 ng/mg de THC 0,2 pg/mg de THC-COOH

à nouveau de l'utilisation de cet alcaloïde par les habitants des Andes [9]. De plus, l'échantillon capillaire se conserve à température ambiante. Enfin, il apporte – intérêt majeur et spécifique de l'analyse de cheveux – une information temporelle... Comme la pousse est, selon les individus, d'environ 0,7 à 1,5 cm par mois, l'analyse par tronçons d'une mèche de cheveu ajoute une dimension chronologique et va permettre de différencier la prise unique de celle de la consommation régulière.

Les inconvénients de l'analyse capillaire sont essentiellement liés à l'exposition des cheveux à l'environnement atmosphérique, aux substances que l'on peut fumer comme la cocaïne (crack), l'héroïne, la méthamphétamine et le cannabis et qui se trouvent dans l'air à l'état de particules en suspension. Ces substances, non ingérées par le sujet, peuvent se déposer sur toute la longueur du cheveu, amenant des concentrations mesurables de drogue et l'augmentation du risque de « faux-positif ». Cependant, déposées sur le cheveu par voie passive, elles sont *a priori* moins bien liées à la matrice. Les laboratoires ont donc mis en œuvre diverses procédures de décontamination, désormais parties intégrantes du processus analytique [7], qui doivent idéalement éliminer le maximum du contaminant externe tout en évitant au maximum l'extraction des substances incorporées. Cela se fait par des lavages, soit par une solution aqueuse, soit par un solvant organique, soit par les deux successivement pendant différents temps de contact et à différentes températures. Des cinétiques de lavage et l'analyse des solutions de décontamination ont révélé que les contaminants étaient éliminés après deux lavages seulement [9].

Il est cependant nécessaire d'analyser les solutions de lavage pour éliminer toutes les éventualités de contamination extérieure, surtout dans un contexte *post mortem*, lorsque des fluides biologiques peuvent entraîner le dépôt du produit sur les cheveux.

Prélèvement et analyse

Les cheveux sont prélevés sur la zone du vertex postérieur. Une mèche d'une centaine de cheveux (équivalent au diamètre d'un crayon à papier) est suffisante. La mèche doit être prélevée au plus près de la peau, aux ciseaux et orientée à l'aide d'une cordelette de façon à distinguer la racine de la pointe (figure 7). La conservation de la mèche ainsi prélevée s'effectue dans une enveloppe en papier, à sec et à température ambiante. Dans le cadre d'expertises judiciaires, une seconde mèche sera prélevée de façon identique et conservée pour une éventuelle contre-expertise.

Le prélèvement doit être accompagné, dans la mesure du possible, de toutes les informations utiles concernant le traitement des cheveux du sujet, ainsi que ses éventuels traitements médicaux ou une consommation connue de stupéfiants.

Chaque section de cheveux constitue un échantillon (tronçon) soumis à analyse (figure 8). La vitesse de pousse évoquée précédemment est considérée comme une représentation statistiquement significative du plus grand nombre de cas de figures possibles, mais ne prend pas en compte les cas exceptionnels ou pathologiques de pousse de cheveux.

La procédure analytique générale est la suivante : décontamination externe ; pulvérisation au broyeur à boulet ou coupé finement aux ciseaux ; hydrolyse acide, alcaline ou enzymatique ; extraction spécifique ; analyse par chromatographie – chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en tandem (CPG/SM/SM) et/ou chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse en tandem (CLHP/SM/SM).

Applications pratiques

Plusieurs types d'applications ont été développés : administration de substances à des enfants ; soumission chimique ; démonstration de cas d'empoisonnement chronique (métaux, pesticides...) ; différenciation entre revendeur et consommateur ; discrimination entre consommation chronique et répétée ; conduite automobile sous influence de stupéfiants, restitution du permis de conduire ; explication de décès.

La Society of Hair Testing (SoHT) [9] a publié des seuils de positivité pour les principaux stupéfiants dans les cheveux (tableau II).

Analyse des cheveux chez les enfants : prudence dans l'interprétation [8]

Le toxicologue doit faire preuve d'une extrême prudence quand il s'agit d'interpréter des concentrations ou la présence de toxiques dans les cheveux d'enfants.

In utero, les premières phanères apparaissent à environ 20 semaines de gestation, puis commencent à pousser sur tout le corps. Initialement, tous les cheveux sont en phase anagène (phase de croissance) et couvrent l'ensemble du cuir chevelu entre la 18^e et la 20^e semaine de gestation. C'est ce

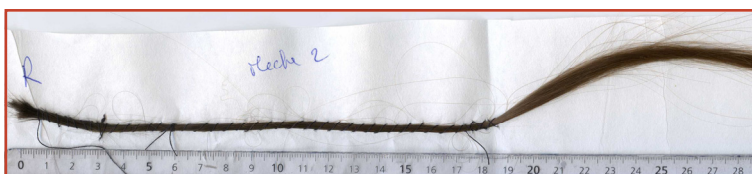


Figure 8 - Préparation d'une mèche en vue avant segmentation.

qui est appelé le lanugo (cheveux primordiaux, très fins, frisés et non pigmentés). À environ 5 mois de gestation, on observe une phase de transition des cheveux, d'anagènes à télogènes (phase de repos), qui survient de la région frontale à la région pariétale. Enfin au 8^e mois, les cheveux du lanugo tombent et sont remplacés par une seconde vague de pousse de duvet de cheveux anagènes.

Lors d'expertises toxicologiques, il est indispensable d'apporter les réserves nécessaires pour interpréter les résultats chez les enfants en bas âge, car de nombreux toxiques auxquels la mère est exposée vont pouvoir traverser la barrière placentaire (selon leur poids moléculaire et leur solubilité dans le sang) et se retrouver dans les cheveux de l'enfant à sa naissance et ainsi progresser le long de la tige capillaire au fil des mois.

D'autre part, même après la naissance, les mécanismes de contrôle de l'homéostasie⁽²⁾ se mettent en place très progressivement chez l'enfant, dont la peau et les muqueuses sont moins épaisses et plus perméables ; la barrière hémato-encéphalique est notamment très perméable à de nombreux toxiques avant 6 mois. De plus, les cheveux des enfants étant plus fins et plus poreux que ceux des adultes, il y a donc un risque important de contamination externe.

Enfin, la vitesse de pousse varie énormément avec l'âge et l'interprétation des résultats devient très délicate, car il n'existe pas d'études chez les enfants. Si l'enfant vit dans un environnement où circulent des médicaments ou des stupéfiants, il faudra prendre en compte une éventuelle contamination externe et ainsi émettre toutes les réserves qui s'imposent.

Le GHB : interprétation des concentrations [15]

Le GHB, ou acide gamma-hydroxybutyrate, est un composé naturel présent dans l'organisme des mammifères en tant que neuromédiateur et neuromodulateur. Il dérive de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA), neurotransmetteur important, fortement impliqué dans le mécanisme d'action des benzodiazépines. Il exerce son action sur des récepteurs spécifiques qui conduisent à une augmentation de la production de dopamine. Les quantités présentes dans l'organisme vivant sont normalement faibles. L'usage du GHB s'est accru ces dernières années car s'il s'agit d'un agent anesthésique d'usage exclusivement hospitalier ; son emploi détourné le conduit à des usages festifs pouvant donner lieu à une certaine euphorie et à une désinhibition psychique qui lui vaut le surnom de « fille facile » ou « d'ecstasy liquide » (il aurait des vertus anorexigènes, aphrodisiaques, euphorisantes et relaxantes).

En France, il a été classé comme stupéfiant en 1999, à l'exception des préparations injectables destinées aux usages médicaux et vétérinaires, qui sont sur la liste I des substances vénéneuses. En dehors du détournement suggéré ci-dessus pour des raisons ludiques volontaires de la part des usagers qui recherchent l'ivresse procurée par le produit, il peut être l'objet de consommation involontaire provoquée. Cette utilisation détournée est décrite dans la littérature sous le nom de soumission chimique, qui peut se définir comme l'administration d'un produit psychoactif à l'insu d'une victime à des fins délictueuses (vol d'argent ou d'objets de valeur) ou criminelles (viol).

L'interprétation des résultats obtenus sur la concentration en GHB dans le cheveu exige une grande prudence, notamment quand on ne possède aucun autre argument clinique ou analytique provenant de l'analyse d'un autre milieu biologique du sujet, et servant de référence.

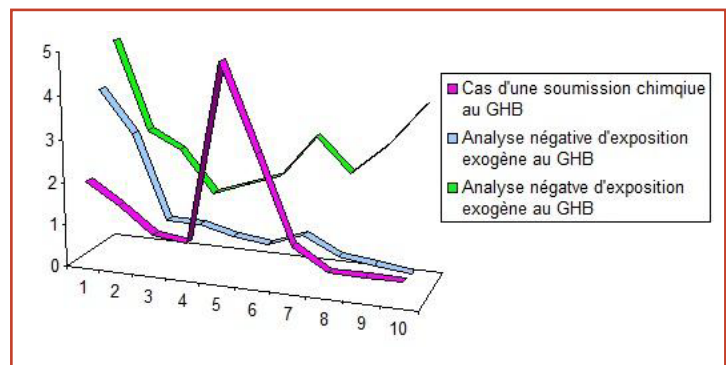


Figure 9 - Profil des concentrations de GHB sur dix tronçons de cheveux de 0,5 cm.

Il est donc préconisé de mesurer sa concentration dans des fractions de mèche réduites en taille et suffisantes en nombre, afin de déterminer le fond de production endogène présent dans le cheveu. L'observation d'un pic par rapport à ce fond peut alors signifier l'existence d'un apport exogène, à la condition que la hauteur du pic soit suffisamment importante pour que ce caractère exogène puisse être affirmé (figure 9).

Selon Vincent Cirimele *et coll.* [15], les concentrations observées dans les cheveux de la population générale sont comprises entre 0,2 et 12 ng/mg, avec une prévalence pour celles comprises entre 0,5 et 5 ng/mg. Chez les consommateurs réguliers de GHB, les concentrations varient entre 9,2 et 229 ng/mg et dans les cas de soumission chimique (prise unique), il est observé une élévation approximative de la concentration en GHB de 170 à 430 % par rapport à la concentration basale enregistrée chez les mêmes sujets.

Certains auteurs ont noté que la concentration observée pouvait être plus importante au niveau de la racine [16], ce qui peut être lié à l'incorporation sudorale.

Synthèse et abus de fentanyl

Le fentanyl est inscrit sur l'annexe I de la liste des substances classées comme stupéfiants aux termes de la législation en vigueur⁽³⁾. C'est un puissant analgésique central réservé à l'anesthésie sous contrôle médical strict.

Dans le cadre d'un trafic de stupéfiants, une analyse des cheveux du revendeur qui synthétiserait lui-même du fentanyl est réalisée. Du fentanyl, ainsi que son principal métabolite le norfentanyl sont trouvés dans tous les tronçons analysés, à des teneurs très importantes témoignant d'un usage chronique à très haute dose de cette substance (figure 10).

Analyse de cas : enfant de 5 ans victime de violences sexuelles

Du prazépam et son principal métabolite le nordazépam sont identifiés sur un seul tronçon de cheveux correspondant à la date des faits, lors de l'analyse de cheveux chez une enfant de 5 ans, victime de violences sexuelles par ascendant (figure 11). Le prazépam, principe actif du Lysanxia[®], est une benzodiazépine susceptible d'être utilisée dans le cadre d'une soumission chimique, pouvant être destinée à rendre la jeune victime particulièrement vulnérable. Le Lysanxia[®], fortement déconseillé en prescription chez l'enfant, existe sous forme de solution buvable ; il est de ce fait aisé à introduire dans une boisson ou un aliment.

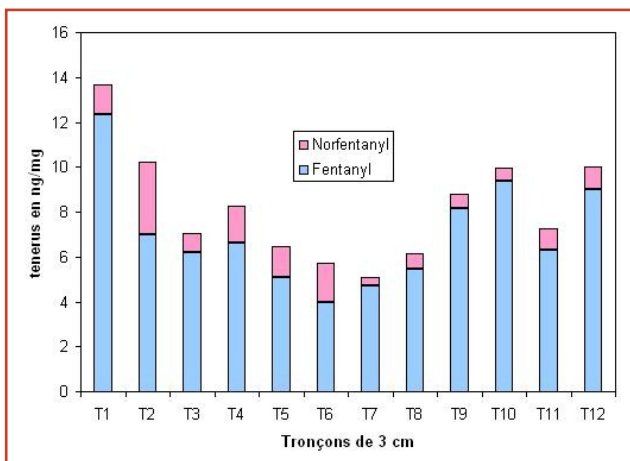


Figure 10 - Profil des concentrations de fentanyl et norfentanyl sur douze tronçons de cheveux de 3 cm.

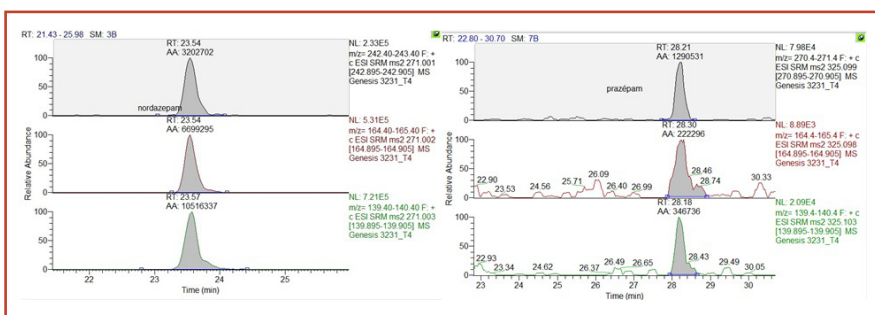


Figure 11 - Chromatogramme d'un extrait capillaire d'un enfant analysé en LC/MS/MS triple quadripôle. Du prazépam et son principal métabolite, le nordazépam, une benzodiazépine anxiolytique, ont été détectés dans un seul tronçon pouvant couvrir la période des faits.

Conclusion

L'analyse à partir de mèches de cheveux permet de mettre en évidence les expositions uniques, chroniques ou répétées aux xénobiotiques. En cela, cette approche augmente de manière remarquable la fenêtre de détection des toxiques. Les résultats donnent des renseignements sur le profil de consommation pendant plusieurs mois, voire des années. Plus rigoureuse que l'analyse urinaire, mais aussi plus complexe techniquement, l'analyse de ces deux milieux biologiques est complémentaire. Si actuellement l'aspect analytique ne pose plus de problème majeur, ce sont les mécanismes d'incorporation et d'élimination, notamment par les traitements cosmétiques, qui peuvent encore poser quelques difficultés pour interpréter les concentrations de certaines substances.

Cependant, de nombreuses études menées ces dernières années tendent à résoudre ces dernières difficultés, le mécanisme d'incorporation des xénobiotiques étant de mieux en mieux connu des experts toxicologues. L'essor technologique de la toxicologie au niveau analytique ces dernières années a permis une évolution de la maîtrise des échantillons biologiques ; l'analyse des cheveux n'échappe pas à cette évolution et constitue une des avancées majeures en toxicologie depuis quelques années.

Notes et références

- (1) **Xénobiotiques** : substances étrangères à l'organisme.
- (2) **Homéostasie** : capacité que peut avoir un organisme à conserver son équilibre de fonctionnement en dépit des contraintes qui lui sont extérieures. Constance des paramètres physico-chimiques de l'organisme.
- (3) Arrêté du 22 février 1990 fixant la liste des substances classées comme stupéfiants publié le 7 juin 1990 au *Journal Officiel*.
- [1] Casper J.L., *Praktisches Handbuch der Gerichtlichen Medizin*, A. Hirschwald, Berlin, **1858**, p. 1857.
- [2] Althausen T.L., Gunther L., Acute arsenic poisoning: a report of seven cases and a study of arsenic excretion with especial reference to hair, *J. of the American Medical Association (JAMA)*, **1929**, 92(24), p. 2002.
- [3] Goldblum R.W., Goldbaum L.R., Piper W.N., Barbiturate concentrations in the skin and hair of guinea pigs, *J. of Investigate Dermatology*, **1954**, 22, p. 121.
- [4] Kintz P., Villain M., Cirimele V., Hair analysis for drug detection, *Therapeutic Drug Monitoring*, **2006**, 28, p. 442.
- [5] Kronstrand R., Forstberg-Peterson S., Kagedal B., Ahlner J., Larson G., Codeine concentration in hair after oral administration is dependent on melanin content, *Clinical Chemistry*, **1999**, 45, p. 1485.
- [6] Bumba V.A., Ziavrou K.S., Vougiouklakis T., Hair as a biological indicator of drug use, drug abuse or chronic exposure to environmental toxicants, *Int. J. Toxicol.*, **2006**, 25, p. 143.
- [7] Smeal S.J., Mechanism of cannabinoid incorporation in hair, *Dissertation of the University of Utah*, Department of Pharmacology and Toxicology, **2007**.
- [8] Humbert L. *et coll.*, Dépression respiratoire après ingestion de méthadone et découverte d'une poly-intoxication chronique, ou d'une polytoxicomanie, chez un enfant de 10 ans par une analyse segmentaire de cheveux, *Annales de Toxicologie Analytique*, **2010**, 22, p. 123.
- [9] Kintz P., Cheveux et toxicologie médico-judiciaire, *Traité de Toxicologie médico-judiciaire*, 2^e éd., Elsevier Masson, **2012**, p. 257.
- [10] Gygi S.P., Wilkins D.G., Rollins D.E., A comparison of phenobarbital and codeine incorporation into pigmented and non pigmented rat hair, *J. Pharm. Sci.*, **1997**, 86, p. 209.
- [11] Nakahara Y., Detection and diagnostic interpretation of amphetamines in hair, *Forensic Sci. Int.*, **1995**, 70, p. 135.
- [12] Avdeef A., Physicochemical profiling (solubility, permeability and charge state), *Current Topic in Medicinal Chemistry*, **2001**, 1, p. 277.
- [13] Nakahara Y., Kikura R., Hair analysis for drugs of abuse. Effect of structural factors on incorporation of drugs into hair: the incorporation rates of amphetamine analogs, *Archives of Toxicology*, **1996**, 70, p. 841.
- [14] Kintz P., Value of the concept of minimal detectable dosage in human hair, *Forensic Sci. Int.*, **2012**, 21, p. 28.
- [15] Cirimele V., Interprétation des concentrations de GHB mesurées dans les cheveux, *Annales de Toxicologie Analytique*, **2010**, 22, p. 161.
- [16] Kintz P., Soumission chimique : approches pratiques en toxicologie médico-légale, *Annales de Toxicologie Analytique*, **2002**, 14, p. 129.



N. Milan

Nathalie Milan (auteur correspondant)

est ingénieur et chef de la section Toxicologie du Laboratoire de Toxicologie de Paris, Institut National de Police Scientifique*.

Claire Martin

est technicienne en toxicologie au Laboratoire de Toxicologie de Paris, INPS*.



C. Martin

* Laboratoire de Toxicologie de Paris, INPS, 2 place Mazas, F-75012 Paris.
Courriels : nathalie.milan@interieur.gouv.fr
claire.martin1@interieur.gouv.fr