



Évaluation des techniques de préparation d'échantillons par évaporation pour des marqueurs d'alcool et de drogues toxicomanogènes dans les échantillons capillaires

Dr Eleanor I Miller & Dr Simon P Elliott
ROAR Forensics, Malvern, Royaume-Uni

Présentation

L'analyse des cheveux peut s'avérer être un outil utile dans de nombreuses applications médico-légales et cliniques visant à établir la consommation de drogues, les tendances d'utilisation et dans l'évaluation de la consommation chronique d'alcool. Ainsi, elle peut être utilisée dans le cadre des enquêtes médico-légales portant sur des décès liés aux drogues (en complément de l'analyse post-mortem d'autres échantillons biologiques), des actes criminels favorisés par les drogues, dans le cadre du programme de conformité pour les personnes bénéficiant d'un traitement de la dépendance à l'alcool et aux drogues ou dans le cadre d'un dépistage sur le lieu de travail ou d'une assurance-maladie.

Les drogues et les métabolites des drogues peuvent être enveloppés dans le système pileux et l'analyse des résidus de ces drogues fournit une évaluation précise de la consommation de drogue rétrospective d'une personne

pendant une période de temps (généralement, plusieurs mois avant le prélèvement de l'échantillon), et offre ainsi plus d'informations qu'une analyse "ponctuelle" comme un test sanguin ou une analyse d'un échantillon d'urine qui donnent uniquement une image instantanée de la consommation de drogues. Une limitation supplémentaire des échantillons de sang ou d'urine est qu'ils doivent être prélevés à des moments qui sont proches dans le temps du moment où la drogue a été consommée ou est présumée avoir été consommée, alors que les échantillons capillaires pour l'analyse peuvent être prélevés de nombreuses semaines plus tard.

Les drogues et les métabolites des drogues circulant dans le sang passe dans le follicule pileux et peuvent donc être renfermés dans les mèches de cheveux lorsque celles-ci se forment sous la peau. À mesure que le cheveu pousse, le segment contenant d'éventuels métabolites de drogue

grandit avec lui. Le cheveu peut prendre plusieurs mois à se développer avant qu'un échantillon capillaire approprié ne puisse être prélevé, ce qui correspond précisément à la période d'examen. Au terme de ce délai, des tests peuvent potentiellement déterminer quels drogues ont été consommées et indiquer également de manière approximative à quel moment elles ont été consommées, ce qui fournit des éléments de preuve pour une consommation de drogues régulière, intense ou isolée.

Validation de l'équipement

Lorsque l'on introduit tout nouvel élément d'instrumentation ou d'équipement dans un environnement hautement contrôlé tel qu'un laboratoire d'analyse médico-légale, le nouvel appareil doit être évalué afin de garantir qu'il n'entraîne aucun phénomène dans les échantillons ou aucune contamination croisée des tubes, ce qui pourrait invalider l'analyse. Le Genevac® EZ-2 est un évaporateur sous vide centrifuge qui peut être utilisé avec de nombreux échantillons et peut donc être utile dans un laboratoire à activité intense. En ce qui concerne la technologie de concentration de l'échantillon par évaporation, les questions les plus importantes concernent la prévention de la contamination croisée et la récupération de l'échantillon, en



particulier pour les analytes très volatils étant donné que certains d'entre eux ne sont présents que dans des proportions de picogrammes (pg). Dans le cadre de l'évaluation des nouveaux équipements, ROAR Forensics a testé le Genevac EZ-2 avant de l'introduire dans ses processus. Un résumé des données est présenté dans ce rapport, qui étudie le potentiel de contamination croisée à l'aide d'un marqueur d'alcool capillaire et d'une solution de drogue toxicomanogène (DoA) et, évalue la récupération de l'amphétamine qui est réputée pour sa volatilité. ▶▶▶

BRILLANTE PERFORMANCE



DURAN® ET MIELE PROFESSIONAL

Une collaboration aux avantages aussi clairs que le cristal

- Conditionnement analytiquement pur
- Garantie de résultats sûrs
- Nettoyage délicat
- Efficacité écologique

Parce que le matériel de travail de qualité mérite un nettoyage professionnel.

www.miele-professional.fr

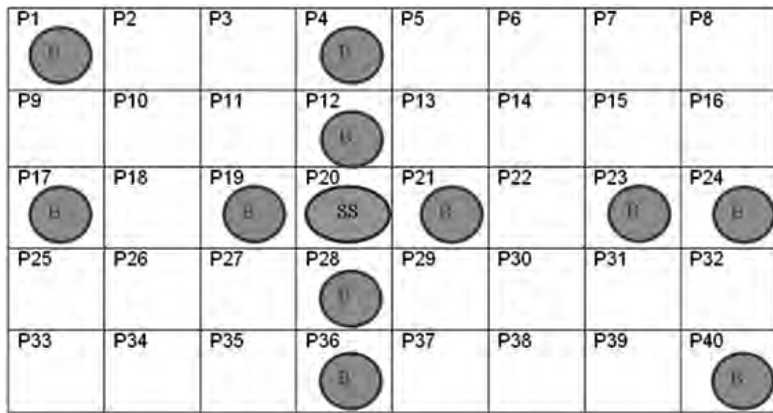
www.duran-group.com

Miele
PROFESSIONAL

 DURAN GROUP
magic of precision



Figure 2 : Schéma des positions de test par rapport au tube dopé



SS = tube dopé B = tube vierge □ ne contenant aucun analyte

Étude de contamination croisée

L'objectif était de déterminer si une éventuelle contamination croisée a eu lieu au cours du processus d'évaporation dans le système Genevac EZ-2 pour un marqueur d'alcool capillaire et les substances toxicomagènes habituellement ciblées dans un laboratoire d'analyse capillaire toxicologique légale, à des concentrations pertinentes.

La méthodologie a été basée sur une étude antérieure de contamination croisée portant sur 96 microplaques qui ont détecté que le parcours de l'échantillon était toujours horizontal¹. Les tubes "vierges" ne contenant aucun analyte ont été placés dans le porte-échantillon le long de la ligne contenant l'échantillon dopé, dans plusieurs positions adjacentes et aussi dans des positions correspondant aux points les plus éloignés de la position de l'échantillon dopé. Des tubes d'une hauteur de 100 mm et d'un diamètre de 13 mm ont été utilisés dans un porte-échantillon Genevac 10-5002. La disposition est illustrée dans la figure 2.

Les tests ont été effectués comme suit :

- 1500 pg d'un marqueur d'alcool capillaire - éthylglucuronide (EtG) dans 2 ml de solvant d'éluant d'extraction en phase solide (SPE), un mélange de méthanol et d'acide formique. Deux porte-échantillons identiques ont été évaporés dans le dispositif EZ-2 à l'aide de la méthode 2, "Low BP", la température du porte-échantillon étant réglée sur 40° C.
- 1000 ng d'une solution standard de substance toxicomagène dans 7 ml d'éluant SPE, un mélange d'acétone, de dichlorométhane, d'acétate d'éthyle et d'hydroxyde d'ammonium. Deux porte-échantillons identiques ont été évaporés dans le dispositif EZ-2 à l'aide de la méthode 5, "Low BP Mix", la température du porte-échantillon étant réglée sur 40° C.

La solution de substance toxicomagène contenait de l'ecgonine méthylester, de la cocaïne, de la benzoylecgonine, de la norcocaïne, du cocaéthylène, de la morphine, de la 6-monoacétylmorphine, de la codéine, de la dihydrocodéine, de la méthadone, de l'EDDP, de l'amphétamine, de la methamphétamine, du MDA, MDMA, MDEA et du MBDB.

Les niveaux d'analytes ont été sélectionnés, parce qu'ils correspondent aux concentrations qui produisent le calibrateur capillaire le plus élevé dans chaque méthode ; 50 pg/mg équivalent pour l'EtG et 50 ng/mg équivalent pour les substances toxicomagènes. Après évaporation, les tubes ont été reconstitués avec 100 de phase mobile et analysés moyennant LC-MS-MS.

Résultats de l'étude de contamination croisée

Aucun analyte EtG ou DOA (substance toxicomagène) n'a été détecté à partir de l'analyse de contenu des tubes qui ont été évaporés dans les positions P1, P4, P12, P17, P19, P21, P23, P24, P28, P36 et P40. La position P20 (contrôle "positif") a détecté les analytes attendus après dopage avec 1500 pg d'EtG ou 1000 ng de DOA.

Étude de récupération de l'analyte

L'amphétamine a été utilisée pour cette étude en raison de sa volatilité reconnue. La concentration choisie pour l'évaluation équivaut à 0,2 ng/mg (le seuil actuellement proposé par la Société d'analyse capillaire (SoHT) pour une indication de la consommation active d'amphétamines)². Une quantité de 4 ng d'amphétamine dans une solution de méthanol a été introduite dans des éprouvettes de 13 x 100 mm. Trois tubes ont été évaporés dans le dispositif EZ-2 à l'aide de la méthode 5 «Low BP», la température du porte-échantillon étant réglée sur 40° C. Trois tubes ont disposé de suffisamment de temps pour une évaporation en hotte d'extraction à température ambiante. Après évaporation, les tubes ont été reconstitués avec 100 de phase mobile et analysés moyennant LC-MS-MS.

Les zones de pointe pour l'amphétamine ont été comparées pour les deux groupes de conditions d'évaporation.

Le pourcentage de récupération relative a été calculé en utilisant l'équation ci-dessous :

$$\% \text{RRécupération} = \frac{\text{zone de pointe moyenne pour l'amphétamine évaporée dans le dispositif Genevac EZ-2} \times 100}{\text{zone de pointe moyenne de l'amphétamine évaporée à température ambiante}}$$

La récupération des tubes évaporés dans le dispositif Genevac EZ-2 par rapport aux tubes évaporés à température ambiante a été établie à 115 %.

Conclusions

Aucune contamination croisée n'a été observée au cours des processus d'évaporation sélectionnés pour les substances EtG ou DOA pour les concentrations testées.

Sur la base des données limitées, il semblerait que le système d'évaporation est approprié pour évaporer l'éluant SPE contenant de l'amphétamine, sans perte observée. Il semblerait également que le programme d'évaporation Genevac utilisé pour les substances DOA permet une excellente récupération de l'amphétamine, qui est réputée pour sa volatilité. D'un point de vue interprétatif, il semblerait que les échantillons contenant des amphétamines à la concentration

recommandée par la SoHT de 0,2 ng/mg seraient déterminés à ce niveau.

Références

1. Système Dri-Pure pour la protection de l'intégrité des échantillons. Une évaluation réalisée par GlaxoWellcome. Dr Martin Deal (1999), disponible sur www.Genevac.com
2. Society of Hair Testing (Société pour l'analyse capillaire). Recommandations pour les analyses capillaires dans les cas de médecine légale. *Forensic.Sci.Int.* 145:83-84 (2004).

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier Eleanor Menzies du King's College London pour sa contribution à cette étude d'évaluation.

À propos des auteurs

Le Dr. Eleanor I Miller est une spécialiste en toxicologie médico-légale et le Dr. Simon P Elliott est le directeur général de ROAR Forensics, Malvern Hills Science Park, Geraldine Road, Malvern, WR14 3SZ, RU. (www.roarforensics.com)



Terminé les vidanges d'huile !

PC 3012 NT VARIO



- le nouveau groupe de pompage spécial chimie pour le vide poussé pour les pilotes et les demi-grands
- l'alternative logique aux pompes à palettes
- l'efficacité du système de contrôle VARIO®

www.vacuubrand.com

VACUUBRAND GMBH + CO KG - France

Sébastien Faivre - Est et Sud/Suisse Romande
T +33 388 980 848 - sebastien.faivre@vacuubrand.com

Patrice Toutain-Keller - Ouest et Nord
T +33 169 090 678 - patrice.toutain-keller@vacuubrand.com



Technologie du vide