



ROYAUME DU MAROC
UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT
FACULTE DE MEDECINE
ET DE PHARMACIE
RABAT



Année : 2020

Thèse N° : 67

METHODES D'ANALYSE EN TOXICOLOGIE

THESE

Présentée et soutenue publiquement le : / /2020

PAR

Madame Jihade ELKAMEL

Née le 14 Novembre 1995 à Mohmmédia

*Pour l'Obtention du Diplôme de
Docteur en Pharmacie*

Mots Clés : Intoxication, Toxique, Méthodes, Analyse, Laboratoire.

Membres du Jury :

Monsieur Yassir BOUSLIMAN

Professeur de Toxicologie

Président

Monsieur Rachid ELJAUDI

Professeur de Toxicologie

Rapporteur

Monsieur Jaouad EL HARTI

Professeur de Chimie Thérapeutique

Juge

Monsieur Mustapha BOUATIA

Professeur de Chimie Analytique et Bromatologie

Juge

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

وَقَدْ عَلِمْنَا

صَدَقَ اللَّهُ الْعَظِيمُ



UNIVERSITE MOHAMMED V
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
RABAT

DOYENS HONORAIRES :

1962 - 1969: Professeur Abdelmalek FARAJ
1969 - 1974: Professeur Abdellatif BERBICH
1974 - 1981: Professeur Bachir LAZRAK
1981 - 1989: Professeur Taieb CHKILI
1989 - 1997: Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 - 2003: Professeur Abdelmajid BELMAHI
2003 - 2013: Professeur Najia HAJJAJ - HASSOUNI

ADMINISTRATION :

<i>Doyen</i>	Professeur Mohamed ADNAOUI
<i>Vice-Doyen chargé des Affaires Académiques et Estudiantines</i>	Professeur Brahim LEKEHAL
<i>Vice-Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération</i>	Professeur Toufiq DAKKA
<i>Vice-Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie</i>	Professeur Younes RAHALI
<i>Secrétaire Général</i>	Mr. Mohamed KARRA

* *Enseignants Militaires*

1 - ENSEIGNANTS-CHERCHEURS MEDECINS ET PHARMACIENS

PROFESSEURS DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR :

Décembre 1984

Pr. MAAOUNI Abdelaziz
Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi
Pr. SETTAF Abdellatif

Médecine Interne - Clinique Royale
Anesthésie -Réanimation
Pathologie Chirurgicale

Décembre 1989

Pr. ADNAOUI Mohamed
Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda

Médecine Interne - Doyen de la FMPR
Neurologie

Janvier et Novembre 1990

Pr. KHARBACH Aïcha
Pr. TAZI Saoud Anas

Gynécologie -Obstétrique
Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AZZOUZI Abderrahim
Pr. BAYAHIA Rabéa
Pr. BELKOUCHI Abdelkader
Pr. BENCHEKROUN Belabbes Abdellatif
Pr. BENSOUDA Yahia
Pr. BERRAHO Amina
Pr. BEZAD Rachid

Anesthésie Réanimation- Doyen de FMPO
Néphrologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pharmacie galénique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique Méd. Chef Maternité des Orangers

Pr. CHERRAH Yahia
Pr. CHOKAIRI Omar
Pr. KHATTAB Mohamed
Pr. SOULAYMANI Rachida
Pr. TAOUFIK Jamal

Pharmacologie
Histologie Embryologie
Pédiatrie
Pharmacologie- Dir. du Centre National PV Rabat
Chimie thérapeutique _____

Décembre 1992

Pr. AHALLAT Mohamed
Pr. BENSOUDA Adil
Pr. CHAHED OUAZZANI Laaziza
Pr. CHRAIBI Chafiq
Pr. EL OUAHABI Abdessamad
Pr. FELLAT Rokaya
Pr. JIDDANE Mohamed
Pr. TAGHY Ahmed
Pr. ZOUHDI Mimoun

Chirurgie Générale Doyen de FMPT
Anesthésie Réanimation
Gastro-Entérologie
Gynécologie Obstétrique
Neurochirurgie
Cardiologie
Anatomie
Chirurgie Générale
Microbiologie

* *Enseignants Militaires*

Mars 1994

Pr. BENJAAFAR Nouredine
Pr. BEN RAIS Nozha
Pr. CAOUI Malika
Pr. CHRAIBI Abdelmjid

EMPA

Pr. EL AMRANI Sabah
Pr. ERROUGANI Abdelkader
Pr. ESSAKALI Malika
Pr. ETTAYEBI Fouad
Pr. IFRINE Lahssan
Pr. RHRAB Brahim
Pr. SENOUCI Karima

Radiothérapie
Biophysique
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métaboliques Doyen de la

Gynécologie Obstétrique
Chirurgie Générale - Directeur du CHIS
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Chirurgie Générale
Gynécologie - Obstétrique
Dermatologie

Mars 1994

Pr. ABBAR Mohamed*
Pr. BENTAHILA Abdelali
Pr. BERRADA Mohamed Saleh
Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
Pr. LAKHDAR Amina
Pr. MOUANE Nezha

Urologie Inspecteur du SSM
Pédiatrie
Traumatologie - Orthopédie
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie

Mars 1995

Pr. ABOUQUAL Redouane
Pr. AMRAOUI Mohamed
Pr. BAIDADA Abdelaziz
Pr. BARGACH Samir
Pr. EL MESNAOUI Abbes
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia
Pr. SEFIANI Abdelaziz
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Chirurgie Générale
Oto-Rhino-Laryngologie
Urologie
Ophtalmologie
Génétique
Réanimation Médicale

Décembre 1996

Pr. BELKACEM Rachid
Pr. BOULANOUAR Abdelkrim
Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
Pr. GAOUZI Ahmed
Pr. OUZEDDOUN Naima
Pr. ZBIR EL Mehdi*

Chirurgie Pédiatrie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Néphrologie
Cardiologie Directeur HMI Mohammed V

* Enseignants Militaires

Novembre 1997

Pr. ALAMI Mohamed Hassan
Pr. BIROUK Nazha
Pr. FELLAT Nadia
Pr. KADDOURI Nouredine
Pr. KOUTANI Abdellatif
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
Pr. TOUFIQ Jallal
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Gynécologie-Obstétrique
Neurologie
Cardiologie
Chirurgie Pédiatrique
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Psychiatrie *Directeur Hôp. Ar-razi Salé*
Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

Pr. BENOMAR ALI
Pr. BOUGTAB
Pr. ER RIHANI Hassan
Pr. BENKIRANE Majid*

Neurologie *Doyen de la FMP Abulcassis*
Abdesslam Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Hématologie

Janvier 2000

Pr. ABID Ahmed*
Pr. AIT OUAMAR Hassan
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr.Sououd
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer
Pr. ECHARRAB El Mahjoub
Pr. EL FTOUH Mustapha
Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
Pr. TACHINANTE Rajae
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Pneumo-phtisiologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Pneumo-phtisiologie *Directeur Hôp. My Youssef*
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pneumo-phtisiologie
Neurochirurgie
Anesthésie-Réanimation
Médecine Interne

Novembre 2000

Pr. AIDI Saadia
Pr. AJANA Fatima Zohra
Pr. BENAMR Said
Pr. CHERTI Mohammed
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
Pr. EL HASSANI Amine
Pr. EL KHADER Khalid
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae

Neurologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie - *Directeur Hôp. Cheikh Zaid*
Urologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Pédiatrie

* Enseignants Militaires

Décembre 2001

Pr. BALKHI Hicham*
Pr. BENABDELJLIL Maria
Pr. BENAMAR Loubna
Pr. BENAMOR Jouada
Pr. BENELBARHDADI Imane
Pr. BENNANI Rajae
Pr. BENOUACHANE Thami
Pr. BEZZA Ahmed*
Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
Pr. BOUMDIN El Hassane*
Pr. CHAT Latifa
Pr. DAALI Mustapha*
Pr. EL HIJRI Ahmed
Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
Pr. EL MADHI Tarik
Pr. EL OUNANI Mohamed
Pr. ETTAIR Said
Pr. GAZZAZ Miloudi*
Pr. HRORA Abdelmalek
Pr. KABIRI EL Hassane*
Pr. LAMRANI Moulay Omar
Pr. LEKEHAL Brahim
Pr. MEDARHRI Jalil
Pr. MIKDAME Mohammed*
Pr. MOHSINE Raouf
Pr. NOUINI Yassine
Pr. SABBAH Farid
Pr. SEFIANI Yasser
Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Anesthésie-Réanimation
Neurologie
Néphrologie
Pneumo-phtisiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Rhumatologie
Anatomie
Radiologie
Radiologie
Chirurgie Générale
Anesthésie-Réanimation
Neuro-Chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique
Chirurgie Générale
Pédiatrie - *Directeur Hôp. Univ. Cheikh Khalifa*
Neuro-Chirurgie
Chirurgie Générale *Directeur Hôpital Ibn Sina*
Chirurgie Thoracique
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Vasculaire Périphérique *V-D chargé Aff Acad. Est.*
Chirurgie Générale
Hématologie Clinique
Chirurgie Générale
Urologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pédiatrie

Décembre 2002

Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
Pr. AMEUR Ahmed *
Pr. AMRI Rachida
Pr. AOURARH Aziz*
Pr. BAMOU Youssef *
Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
Pr. BENZEKRI Laila
Pr. BENZZOUBEIR Nadia
Pr. BERNOUSSI Zakiya

Anatomie Pathologique
Urologie
Cardiologie
Gastro-Entérologie *Dir.-Adj. HMI Mohammed V*
Biochimie-Chimie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Anatomie Pathologique

* Enseignants Militaires

Pr. CHOHO Abdelkrim *
Pr. CHKIRATE Bouchra
Pr. EL ALAMI EL Fellous Sidi Zouhair
Pr. EL HAOURI Mohamed *
Pr. FILALI ADIB Abdelhai
Pr. HAJJI Zakia
Pr. JAAFAR Abdeloihab*
Pr. KRIOUILE Yamina
Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
Pr. OUJILAL Abdelilah
Pr. RAISS Mohamed
Pr. SIAH Samir *
Pr. THIMOU Amal
Pr. ZENTAR Aziz*

Janvier 2004

Pr. ABDELLAH El Hassan
Pr. AMRANI Mariam
Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
Pr. BENKIRANE Ahmed*
Pr. BOULAADAS Malik
Pr. BOURAZZA Ahmed*
Pr. CHAGAR Belkacem*
Pr. CHERRADI Nadia
Pr. EL FENNI Jamal*
Pr. EL HANCHI ZAKI
Pr. EL KHORASSANI Mohamed
Pr. HACHI Hafid
Pr. JABOUIRIK Fatima
Pr. KHARMAZ Mohamed
Pr. MOUGHIL Said
Pr. OUBAAZ Abdelbarre *
Pr. TARIB Abdelilah*
Pr. TIJAMI Fouad
Pr. ZARZUR Jamila

Janvier 2005

Pr. ABBASSI Abdellah
Pr. ALLALI Fadoua
Pr. AMAZOUZI Abdellah
Pr. BAHIRI Rachid
Pr. BARKAT Amina

Chirurgie Générale
Pédiatrie
Chirurgie Pédiatrique
Dermatologie
Gynécologie Obstétrique
Ophtalmologie
Traumatologie Orthopédie
Pédiatrie
Gynécologie Obstétrique
Oto-Rhino-Laryngologie
Chirurgie Générale
Anesthésie Réanimation
Pédiatrie
Chirurgie Générale

Ophtalmologie
Anatomie Pathologique
Oto-Rhino-Laryngologie
Gastro-Entérologie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Neurologie
Traumatologie Orthopédie
Anatomie Pathologique
Radiologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Ophtalmologie
Pharmacie Clinique
Chirurgie Générale
Cardiologie

Chirurgie Réparatrice et Plastique
Rhumatologie
Ophtalmologie
Rhumatologie
Pédiatrie

Directeur Hôp. Al Ayachi Salé

* Enseignants Militaires

Pr. BENYASS Aatif
Pr. DOUDOUH Abderrahim*
Pr. HAJJI Leila
Pr. HESSISSEN Leila
Pr. JIDAL Mohamed*
Pr. LAAROUSSI Mohamed
Pr. LYAGOUBI Mohammed
Pr. SBIHI Souad
Pr. ZERAIDI Najia

Cardiologie
Biophysique
Cardiologie (mise en disponibilité)
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie Cardio-vasculaire
Parasitologie
Histo-Embryologie Cytogénétique
Gynécologie Obstétrique

AVRIL 2006

Pr. ACHEMLAL Lahsen*
Pr. BELMEKKI Abdelkader*
Pr. BENCHEIKH Razika
Pr. BIYI Abdelhamid*
Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
Pr. BOULAHYA Abdellatif*

Rhumatologie
Hématologie
O.R.L
Biophysique
Chirurgie - Pédiatrique
Chirurgie Cardio - Vasculaire. *Directeur Hôpital Ibn Sina*

Marr.

Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
Pr. DOGHMI Nawal
Pr. FELLAT Ibtissam
Pr. FAROUDY Mamoun
Pr. HARMOUCHE Hicham
Pr. IDRIS LAHLOU Amine*
Pr. JROUNDI Laila
Pr. KARMOUNI Tariq
Pr. KILI Amina
Pr. KISRA Hassan
Pr. KISRA Mounir
Pr. LAATIRIS Abdelkader*
Pr. LMIMOUNI Badreddine*
Pr. MANSOURI Hamid*
Pr. OUANASS Abderrazzak
Pr. SAFI Soumaya*
Pr. SOUALHI Mouna
Pr. TELLAL Saida*
Pr. ZAHRAOUI Rachida

Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Médecine Interne
Microbiologie
Radiologie
Urologie
Pédiatrie
Psychiatrie
Chirurgie - Pédiatrique
Pharmacie Galénique
Parasitologie
Radiothérapie
Psychiatrie
Endocrinologie
Pneumo - Phtisiologie
Biochimie
Pneumo - Phtisiologie

Octobre 2007

Pr. ABIDI Khalid
Pr. ACHACHI Leila
Pr. ACHOUR Abdessamad*

Réanimation médicale
Pneumo phtisiologie
Chirurgie générale

* Enseignants Militaires

Pr. AIT HOUSSA Mahdi *
Pr. AMHAJJI Larbi *
Pr. AOUI Sarra
Pr. BAITE Abdelouahed *
Pr. BALOUCH Lhousaine *
Pr. BENZIANE Hamid *
Pr. BOUTIMZINE Nourdine
Pr. CHERKAOUI Naoual *
Pr. EHIRCHIOU Abdelkader *
Pr. EL BEKKALI Youssef *
Pr. EL ABSI Mohamed
Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
Pr. EL OMARI Fatima
Pr. GHARIB Nouredine
Pr. HADADI Khalid *
Pr. ICHOU Mohamed *
Pr. ISMAILI Nadia
Pr. KEBDANI Tayeb
Pr. LOUZI Lhoussain *
Pr. MADANI Naoufel
Pr. MAHI Mohamed *
Pr. MARC Karima
Pr. MASRAR Azlarab
Pr. MRANI Saad *
Pr. OUZZIF Ez zohra *
Pr. RABHI Monsef *
Pr. RADOUANE Bouchaib*
Pr. SEFFAR Myriame
Pr. SEKHSOKH Yessine *
Pr. SIFAT Hassan *
Pr. TABERKANET Mustafa *
Pr. TACHFOUTI Samira
Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*
Pr. TANANE Mansour *
Pr. TLIGUI Houssain
Pr. TOUATI Zakia

Mars 2009

Pr. ABOUZAHIR Ali *
Pr. AGADR Aomar *
Pr. AIT ALI Abdelmounaim *
Pr. AKHADDAR Ali *

Chirurgie cardio vasculaire
Traumatologie orthopédie
Parasitologie
Anesthésie réanimation
Biochimie-chimie
Pharmacie clinique
Ophtalmologie
Pharmacie galénique
Chirurgie générale
Chirurgie cardio-vasculaire
Chirurgie générale
Anesthésie réanimation
Psychiatrie
Chirurgie plastique et réparatrice
Radiothérapie
Oncologie médicale
Dermatologie
Radiothérapie
Microbiologie
Réanimation médicale
Radiologie
Pneumo phtisiologie
Hématologie biologique
Virologie
Biochimie-chimie
Médecine interne
Radiologie
Microbiologie
Microbiologie
Radiothérapie
Chirurgie vasculaire périphérique
Ophtalmologie
Chirurgie générale
Traumatologie-orthopédie
Parasitologie
Cardiologie

Médecine interne
Pédiatrie
Chirurgie Générale
Neuro-chirurgie

* Enseignants Militaires

Pr. ALLALI Nazik
 Pr. AMINE Bouchra
 Pr. ARKHA Yassir
 Pr. BELYAMANI Lahcen *
 Pr. BJIJOU Younes
 Pr. BOUHSAIN Sanae *
 Pr. BOUI Mohammed *
 Pr. BOUNAIM Ahmed *
 Pr. BOUSSOUGA Mostapha *
 Pr. CHTATA Hassan Toufik *
 Pr. DOGHMI Kamal *
 Pr. EL MALKI Hadj Omar
 Pr. EL OUENNASS Mostapha*
 Pr. ENNIBI Khalid *
 Pr. FATHI Khalid
 Pr. HASSIKOU Hasna *
 Pr. KABBAJ Nawal
 Pr. KABIRI Meryem
 Pr. KARBOUBI Lamya
 Pr. LAMSAOURI Jamal *
 Pr. MARMADE Lahcen
 Pr. MESKINI Toufik
 Pr. MESSAOUDI Nezha *
 Pr. MSSROURI Rahal
 Pr. NASSAR Ittimade
 Pr. OUKERRAJ Latifa
 Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *

Radiologie
 Rhumatologie
 Neuro-chirurgie *Directeur Hôp.des Spécialités*
 Anesthésie Réanimation
 Anatomie
 Biochimie-chimie
 Dermatologie
 Chirurgie Générale
 Traumatologie-orthopédie
 Chirurgie Vasculaire Périphérique
 Hématologie clinique
 Chirurgie Générale
 Microbiologie
 Médecine interne
 Gynécologie obstétrique
 Rhumatologie
 Gastro-entérologie
 Pédiatrie
 Pédiatrie
 Chimie Thérapeutique
 Chirurgie Cardio-vasculaire
 Pédiatrie
 Hématologie biologique
 Chirurgie Générale
 Radiologie
 Cardiologie
 Pneumo-Phtisiologie

Octobre 2010

Pr. ALILOU Mustapha
 Pr. AMEZIANE Taoufiq*
 Pr. BELAGUID Abdelaziz
 Pr. CHADLI Mariama*
 Pr. CHEMSI Mohamed*
 Pr. DAMI Abdellah*
 Pr. DARBI Abdellatif*
 Pr. DENDANE Mohammed Anouar
 Pr. EL HAFIDI Naima
 Pr. EL KHARRAS Abdennasser*
 Pr. EL MAZOUZ Samir

Anesthésie réanimation
 Médecine Interne *Directeur ERSSM*
 Physiologie
 Microbiologie
 Médecine Aéronautique
 Biochimie- Chimie
 Radiologie
 Chirurgie Pédiatrique
 Pédiatrie
 Radiologie
 Chirurgie Plastique et Réparatrice

* Enseignants Militaires

Pr. EL SAYEGH Hachem
Pr. ERRABIH Ikram
Pr. LAMALMI Najat
Pr. MOSADIK Ahlam
Pr. MOUJAHID Mountassir*
Pr. NAZIH Mouna*
Pr. ZOUAIDIA Fouad

Urologie
Gastro-Entérologie
Anatomie Pathologique
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Hématologie
Anatomie Pathologique

Decembre 2010

Pr. ZNATI Kaoutar

Anatomie Pathologique

Mai 2012

Pr. AMRANI Abdelouahed
Pr. ABOUELALAA Khalil *
Pr. BENCHEBBA Driss *
Pr. DRISSI Mohamed *
Pr. EL ALAOUI MHAMDI Mouna
Pr. EL OUAZZANI Hanane *
Pr. ER-RAJI Mounir
Pr. JAHID Ahmed
Pr. RAISSOUNI Maha *

Chirurgie pédiatrique
Anesthésie Réanimation
Traumatologie-orthopédie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Pneumophtisiologie
Chirurgie Pédiatrique
Anatomie Pathologique
Cardiologie

Février 2013

Pr. AHID Samir
Pr. AIT EL CADI Mina
Pr. AMRANI HANCHI Laila
Pr. AMOR Mourad
Pr. AWAB Almahdi
Pr. BELAYACHI Jihane
Pr. BELKHADIR Zakaria Houssain
Pr. BENCHEKROUN Laila
Pr. BENKIRANE Souad
Pr. BENNANA Ahmed*
Pr. BENSghir Mustapha *
Pr. BENYAHIA Mohammed *
Pr. BOUATIA Mustapha
Pr. BOUABID Ahmed Salim*
Pr. BOUTARBOUCH Mahjouba
Pr. CHAIB Ali *
Pr. DENDANE Tarek

Pharmacologie
Toxicologie
Gastro-Entérologie
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Réanimation Médicale
Anesthésie Réanimation
Biochimie-Chimie
Hématologie
Informatique Pharmaceutique
Anesthésie Réanimation
Néphrologie
Chimie Analytique et Bromatologie
Traumatologie orthopédie
Anatomie
Cardiologie
Réanimation Médicale

* Enseignants Militaires

Pr. DINI Nouzha *	Pédiatrie
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Mohamed Ali	Anesthésie Réanimation
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Najwa	Radiologie
Pr. ELFATEMI Nizare	Neuro-chirurgie
Pr. EL GUERROUJ Hasnae	Médecine Nucléaire
Pr. EL HARTI Jaouad	Chimie Thérapeutique
Pr. EL JAOUDI Rachid *	Toxicologie
Pr. EL KABABRI Maria	Pédiatrie
Pr. EL KHANNOUSSI Basma	Anatomie Pathologique
Pr. EL KHLOUFI Samir	Anatomie
Pr. EL KORAICHI Alae	Anesthésie Réanimation
Pr. EN-NOUALI Hassane *	Radiologie
Pr. ERRGUIG Laila	Physiologie
Pr. FIKRI Meryem	Radiologie
Pr. GHFIR Imade	Médecine Nucléaire
Pr. IMANE Zineb	Pédiatrie
Pr. IRAQI Hind	Endocrinologie et maladies métaboliques
Pr. KABBAJ Hakima	Microbiologie
Pr. KADIRI Mohamed *	Psychiatrie
Pr. LATIB Rachida	Radiologie
Pr. MAAMAR Mouna Fatima Zahra	Médecine Interne
Pr. MEDDAH Bouchra	Pharmacologie
Pr. MELHAOUI Adyl	Neuro-chirurgie
Pr. MRABTI Hind	Oncologie Médicale
Pr. NEJJARI Rachid	Pharmacognosie
Pr. OUBEJJA Houda	Chirurgie Pédiatrique
Pr. OUKABLI Mohamed *	Anatomie Pathologique
Pr. RAHALI Younes	Pharmacie Galénique <i>Vice-Doyen à la Pharmacie</i>
Pr. RATBI Ilham	Génétique
Pr. RAHMANI Mounia	Neurologie
Pr. REDA Karim *	Ophtalmologie
Pr. REGRAGUI Wafa	Neurologie
Pr. RKAIN Hanan	Physiologie
Pr. ROSTOM Samira	Rhumatologie
Pr. ROUAS Lamiaa	Anatomie Pathologique
Pr. ROUIBAA Fedoua *	Gastro-Entérologie
Pr SALIHOUN Mouna	Gastro-Entérologie
Pr. SAYAH Rochde	Chirurgie Cardio-Vasculaire
Pr. SEDDIK Hassan *	Gastro-Entérologie
Pr. ZERHOUNI Hicham	Chirurgie Pédiatrique
Pr. ZINE Ali *	Traumatologie Orthopédie

* Enseignants Militaires

AVRIL 2013

Pr. EL KHATIB MOHAMED KARIM *

Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale

MARS 2014

Pr. ACHIR Abdellah

Pr. BENCHAKROUN Mohammed *

Pr. BOUCHIKH Mohammed

Pr. EL KABBAJ Driss *

Pr. EL MACHTANI IDRISSE Samira *

Pr. HARDIZI Houyam

Pr. HASSANI Amale *

Pr. HERRAK Laila

Pr. JANANE Abdellah *

Pr. JEAIDI Anass *

Pr. KOUACH Jaouad*

Pr. LEMNOUER Abdelhay*

Pr. MAKRAM Sanaa *

Pr. OULAHYANE Rachid*

Pr. RHISSASSI Mohamed Jaafar

Pr. SEKKACH Youssef*

Pr. TAZI MOUKHA Zakia

Chirurgie Thoracique

Traumatologie- Orthopédie

Chirurgie Thoracique

Néphrologie

Biochimie-Chimie

Histologie- Embryologie-Cytogénétique

Pédiatrie

Pneumologie

Urologie

Hématologie Biologique

Génycologie-Obstétrique

Microbiologie

Pharmacologie

Chirurgie Pédiatrique

CCV

Médecine Interne

Généologie-Obstétrique

DECEMBRE 2014

Pr. ABILKACEM Rachid*

Pr. AIT BOUGHIMA Fadila

Pr. BEKKALI Hicham *

Pr. BENZAOU Salma

Pr. BOUABDELLAH Mounya

Pr. BOUCHRIK Mourad*

Pr. DERRAJI Soufiane*

Pr. DOBLALI Taoufik

Pr. EL AYOUBI EL IDRISSE Ali

Pr. EL GHADBANE Abdedaim Hatim*

Pr. EL MARJANY Mohammed*

Pr. FEJJAL Nawfal

Pr. JAHIDI Mohamed*

Pr. LAKHAL Zouhair*

Pr. OUDGHIRI NEZHA

Pr. RAMI Mohamed

Pr. SABIR Maria

Pr. SBAI IDRISSE Karim*

Pédiatrie

Médecine Légale

Anesthésie-Réanimation

Chirurgie Maxillo-Faciale

Biochimie-Chimie

Parasitologie

Pharmacie Clinique

Microbiologie

Anatomie

Anesthésie-Réanimation

Radiothérapie

Chirurgie Réparatrice et Plastique

O.R.L

Cardiologie

Anesthésie-Réanimation

Chirurgie Pédiatrique

Psychiatrie

Médecine préventive, santé publique et Hyg.

* Enseignants Militaires

AOÛT 2015

Pr. MEZIANE Meryem
Pr. TAHIRI Latifa

Dermatologie
Rhumatologie

PROFESSEURS AGREGES :

JANVIER 2016

Pr. BENKABBOU Amine
Pr. EL ASRI Fouad*
Pr. ERRAMI Noureddine*
Pr. NITASSI Sophia

Chirurgie Générale
Ophtalmologie
O.R.L
O.R.L

JUIN 2017

Pr. ABBI Rachid*
Pr. ASFALOU Ilyasse*
Pr. BOUAYTI El Arbi*
Pr. BOUTAYEB Saber
Pr. EL GHISSASSI Ibrahim
Pr. HAFIDI Jawad
Pr. OURAINI Saloua*
Pr. RAZINE Rachid
Pr. ZRARA Abdelhamid*

Microbiologie
Cardiologie
Médecine préventive, santé publique et Hyg.
Oncologie Médicale
Oncologie Médicale
Anatomie
O.R.L
Médecine préventive, santé publique et Hyg.
Immunologie

NOVEMBRE 2018

Pr. AMELLAL Mina
Pr. SOULY Karim
Pr. TAHRI Rajae

Anatomie
Microbiologie
Histologie-Embryologie-Cytogénétique

NOVEMBRE 2019

Pr. AATIF Taoufiq *
Pr. ACHBOUK Abdelhafid *
Pr. ANDALOUSSI SAGHIR Khalid *
Pr. BABA HABIB Moulay Abdellah *
Pr. BASSIR RIDA ALLAH
Pr. BOUATTAR TARIK
Pr. BOUFETTAL MONSEF
Pr. BOUCHENTOUF Sidi Mohammed *
Pr. BOUZELMAT Hicham *
Pr. BOUKHRIS Jalal *

Néphrologie
Chirurgie Réparatrice et Plastique
Radiothérapie
Gynécologie-obstétrique
Anatomie
Néphrologie
Anatomie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Traumatologie-orthopédie

* Enseignants Militaires

Pr. CHAFRY Bouchaib *	Traumatologie-orthopédie
Pr. CHAHDI Hafsa *	Anatomie Pathologique
Pr. CHERIF EL ASRI Abad *	Neurochirurgie
Pr. DAMIRI Amal *	Anatomie Pathologique
Pr. DOGHMI Nawfal *	Anesthésie-réanimation
Pr. ELALAOUI Sidi-Yassir	Pharmacie Galénique
Pr. EL ANNAZ Hicham *	Virologie
Pr. EL HASSANI Moulay EL Mehdi *	Gynécologie-obstétrique
Pr. EL HJOUJI Abderrahman *	Chirurgie Générale
Pr. EL KAOUI Hakim *	Chirurgie Générale
Pr. EL WALI Abderrahman *	Anesthésie-réanimation
Pr. EN-NAFAA Issam *	Radiologie
Pr. HAMAMA Jalal *	Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Pr. HEMMAOUI Bouchaib *	O.R.L
Pr. HJIRA Naoufal *	Dermatologie
Pr. JIRA Mohamed *	Médecine Interne
Pr. JNIENE Asmaa	Physiologie
Pr. LARAQUI Hicham *	Chirurgie Générale
Pr. MAHFOUD Tarik *	Oncologie Médicale
Pr. MEZIANE Mohammed *	Anesthésie-réanimation
Pr. MOUTAKI ALLAH Younes *	Chirurgie Cardio-vasculaire
Pr. MOUZARI Yassine *	Ophthalmologie
Pr. NAOUI Hafida *	Parasitologie-Mycologie
Pr. OBTEL Majdouline	Médecine préventive, santé publique et Hyg.
Pr. OURRAI Abdelhakim *	Pédiatrie
Pr. SAOUAB Rachida *	Radiologie
Pr. SBITTI Yassir *	Oncologie Médicale
Pr. ZADDOUG Omar *	Traumatologie Orthopédie
Pr. ZIDOUEH Saad *	Anesthésie-réanimation

* Enseignants Militaires

2 - ENSEIGNANTS-CHERCHEURS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS/Prs. HABILITES

Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
Pr. ALAMI OUHABI Naima	Biochimie-chimie
Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Pr. BARKIYOU Malika	Histologie-Embryologie
Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
Pr. CHAHED OUAZZANI Lalla Chadia	Biochimie-chimie
Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie
Pr. FAOUZI Moulay El Abbas	Pharmacologie
Pr. IBRAHIMI Azeddine	Biologie moléculaire/Biotechnologie
Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med	Chimie Organique
Pr. REDHA Ahlam	Chimie
Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
Pr. YAGOUBI Maamar	Environnement,Eau et Hygiène
Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie

Mise à jour le 11/06/2020

KHALED Abdellah

Chef du Service des Ressources Humaines

FMPR

* Enseignants Militaires



Dédicaces

A decorative circular frame composed of two parallel gold lines. The frame is adorned with floral elements: a large pink flower with green leaves on the left side and another large pink flower with green leaves on the right side. Small gold dots are scattered around the perimeter of the frame.

Ô bon dieu tout puissant

Qui m'a inspiré

*Qui m'a guidé dans le bon
chemin Je vous dois ce que je
suis devenue*

A Ma très chère Mère

*C'est pour moi un jour d'une grande importance, car je sais
que tu es à la fois fière et heureuse de voir le fruit de ton éducation
et de tes efforts inlassables se concrétiser.*

*Aucun mot, aussi expressif qu'il soit, ne saurait remercier
à sa juste valeur, l'être qui a consacré sa vie à parfaire
mon éducation avec un dévouement inégal.*

*C'est grâce à ALLAH puis à toi que je suis devenue
ce que je suis aujourd'hui.*

*Puisse ALLAH m'aider pour rendre un peu soit-il
de ce que tu m'as donné.*

Puisse ALLAH t'accorder santé, bonheur et longue vie.

A Mon très cher Père

*Le grand militant, qui a toujours été un exemple pour ses enfants,
qui m'a toujours poussé à me surpasser dans tout ce que
j'entreprends, qui m'a transmis cette rage de vaincre et la faim de
savoir.*

*Je te serai cher père reconnaissant toute ma vie, pour tout le mal que
tu t'es donné pour moi à chaque étape de ma vie,
pour ta patience et ton amour.*

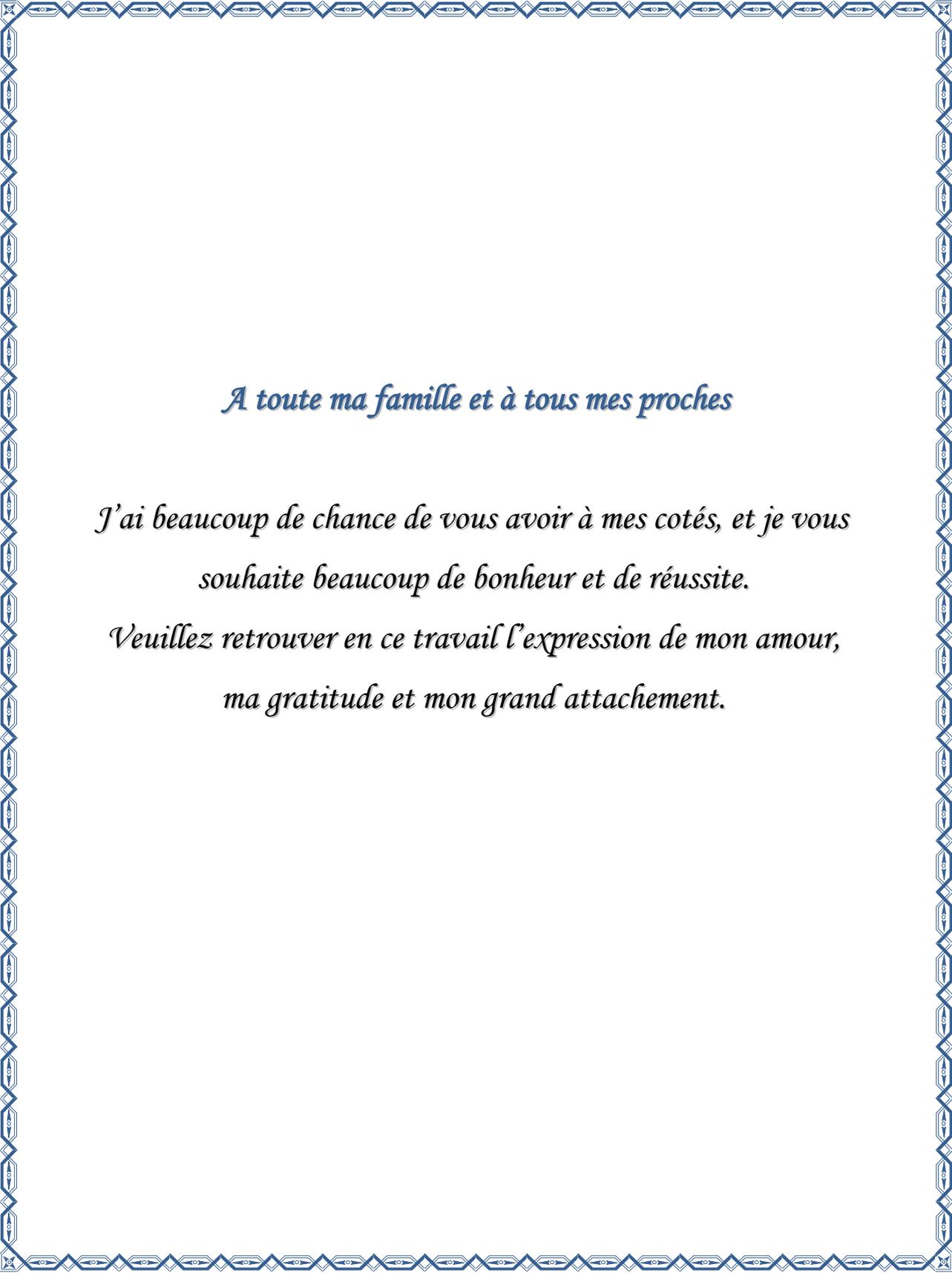
*Ce titre de Pharmacienne, je le porterai fièrement et je te le dédie tout
particulièrement.*

A mes sœurs et mes frères

*Les mots ne sauraient exprimer l'entendu de l'affection
que j'ai pour vous et ma gratitude.*

*Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur,
de santé et de réussite. Je vous souhaite une vie pleine
de bonheur, de santé et de prospérité.*

Que ALLAH vous bénisse et vous protège



A toute ma famille et à tous mes proches

*J'ai beaucoup de chance de vous avoir à mes cotés, et je vous
souhaite beaucoup de bonheur et de réussite.*

*Veillez retrouver en ce travail l'expression de mon amour,
ma gratitude et mon grand attachement.*

A tous mes amis (es)

*Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous
exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des frères
et sœurs et des amis sur qui je peux compter.*

*En témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de tous
les moments que nous avons passé ensemble, je vous dédie ce travail
et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.*



Remerciements

*A notre maitre et Président de thèse Monsieur
Le Professeur Yassir BOUSLIMAN*

*Si votre présidence du jury de cette thèse est pour nous
un grand honneur, elle confirme les qualités professionnelles et
humaines que reconnaissent tous les étudiants et résidents
qui sont passés par votre service.*

*Votre compétence, votre rigueur, ainsi que votre modestie
ont bien marqué notre parcours.*

*A travers cette dédicace, nous espérons vivement pouvoir
exprimer nos respects les plus profonds, ainsi
que notre vive reconnaissance.*

*Vous pouvez vous enorgueillir d'avoir accompli votre
devoir d'éducateur.*

*Nous vous renouvelons, notre profonde estime
et admiration pour ce que vous êtes.*

*A notre maitre et rapporteur de thèse
monsieur le professeur Rachid ELJAOUDI*

En acceptant d'encadrer ce travail, vous nous avez fait un grand honneur, Vous nous avez toujours accueilli avec bienveillance et aidé à mener à bien cette thèse. Veuillez, Monsieur, accepter l'expression de notre dévouement, notre profond respect et notre reconnaissance.

A notre maitre et juge de thèse

Monsieur le Professeur Mustapha BOUATIA

Nous avons été touchés par la grande amabilité et la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de juger cette thèse. Vous nous faites un très bon exemple à suivre par vos compétences et vos qualités morales. Nous vous prions de recevoir ici l'expression de notre profond respect et de notre sincère reconnaissance.

Veillez trouver ici le témoignage respectueux de notre reconnaissance et admiration.



Liste des abréviations

LISTE DES ABREVIATIONS

Ac	: Anticorps
Ag	: Antigène
AD	: Antidépresseur
ATC	: Antidépresseur tricyclique
ATP	: Adénosine triphosphate
BOV	: Bloc auriculoventriculaire
BZD	: Benzodiazépines
C	: Concentration
Ca	: Concentration acide
CAPM	: Centre antipoison du Maroc
Cb	: Concentration base
CCM	: Chromatographie sur couche mince
CE	: Champ électronique
CG	: Chromatographie en phase gazeuse
CIVD	: Coagulation intraventriculaire disséminée
CL	: Chromatographie liquide T : Temps
CLHP	: Chromatographie liquide haute performance
CO	: Monoxyde de carbone
CPG	: Chromatographie en phase gazeuse
DEC	: Détecteurs électrochimiques
DEDL	: Détecteur évaporatif à diffusion de la lumière
DEL	: Diodes émettrices de Lumière
DI	: Diamètre interne
EC	: Électrophorèse capillaire
ECBU	: Examen cytobactériologique des urines

ELISA	: Enzyme linked immunosorbent assay
EMIT	: Enzyme multiplie immunoassay technique
EOF	: Flux électroosmotique
FPIA	: Fluorescence polarization immunoassay
FTIR	: Infrarouge à transformée de fourier
ICH	: International conference on harmonisation
ICP	: Plasma à couplage inductif
IMAO	: Inhibiteurs de la monoamine oxydase
IR	: Infrarouge
LASER	: Light amplification by stimulated emission of radiation.
LSA	: Acidelysergique
MAM	: Monoacétylmorphine
Pa	: Pascale
PES	: Piqures et envenimations scorpioniques
PLOT	: Porous layer open tubular
QTH	: Quartz-Tungstène-Halogène
Rf	: Radiofréquence
Rf	: rapport frontale
RIA	: radio immuno assay
RMN	: Résonance magnétique nucléaire
SAA	: spectrométrie d'absorption atomique
SCOT	: Support coated open tubular
SFC	: Chromatographie supercritique
SM	: Spectrométrie de masse
UV	: Ultraviolet
Va	: Volume acide
Vb	: Volume base
WCOT	: Wall coated open tubular



Liste des illustrations

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : symbole d'une substance toxique.	5
Figure 2 : comparaison de la gravité des symptômes avec la concentration dans le sang en fonction du temps [9].	6
Figure 3 : comparaison de la gravité des symptômes avec la concentration en fonction du temps [9].	7
Figure 4 : Evolution des déclarations des cas d'intoxications selon le système d'information et l'année, CAPM, 1980-2018 [16].	12
Figure 5 : Répartition des déclarations des cas d'intoxications selon la tranche d'âge, CAPM, 2018 [16].	14
Figure 6 : Modèle de demande d'analyse toxicologique [23].	32
Figure 7 : Montage de l'hydro distillation [27].	50
Figure 8 : tube inducteur Drager [29].	51
Figure 9 : Extraction à plusieurs étages.	55
Figure 10 : schéma de l'extracteur soxhlet.	58
Figure 11 : Les différentes étapes de l'extraction en phase solide [41].	60
Figure 12 : Les étapes de la dilution [43].	62
Figure 13 : principe générale de l'immunochimie.	75
Figure 14 : schéma détaillé du mécanisme des techniques immunochimiques Ria et ELISA.	77
Figure 15 : mécanisme d'EMIT.	79
Figure 16 : mécanisme de FPIA.	82
Figure 17 : appareillage HPLC.	91
Figure 18 : Schéma des différentes pompes.	93
Figure 19 : schéma des injecteurs [58].	94
Figure 20 : schéma d'une colonne [60].	95
Figure 21 : L'appareillage utilisé en chromatographie en phase gazeuse. Gaz vecteur	105
Figure 22 : Schéma de l'injecteur à vaporisation directe.	106
Figure 23 : schéma de l'injecteur diviseur ou split.	107

Figure 24 : schéma de colonne remplie.....	108
Figure 25 : schéma de colonne capillaire.	109
Figure 26 : Schéma d'un système électrophorétique.	112
Figure 27 : Schéma de l'électrophorèse capillaire [66].	114
Figure 28 : Schéma de l'appareillage en SAA [70].	119
Figure 29 : photo d'une lampe à vapeur spectrale [71]	120
Figure 30 : photo d'une lampe à cathode creuse [72].	120
Figure 31 : lampe à décharge [75].	121
Figure 32 : Schéma d'un photomultiplicateur.....	124
Figure 33 : photo d'une lampe à deutérium	125
Figure 34 : appareillages utilisé en spectrométrie d'émission atomique.	129
Figure 35 : Les différents constituants de l'appareil spectroscopie IR.....	134
Figure 36 : Filament de Global [83].	135
Figure 37 : Filament de Nichrome [84]	135
Figure 38 : Lampes en quartz-tungstène-halogène (QTH)	136
Figure 39 : spectrométrie de masse.	138
Figure 40 : Schéma de principe d'une spectrométrie RMN.	141
Figure 41 : du couplage UPLC-TQD utilisé.	155

LISTE DES TABLEAUX

<i>Tableau I : répartition des cas en fonction du mode de recueil par CAPM, 2018.</i>	13
<i>Tableau II: Incidence pour 100 000 habitants des cas d'intoxications selon les régions, CAPM, 2018 [16].</i>	15
<i>Tableau III: Taux de létalité spécifique selon la famille de toxique, CAPM, 2015-2018 [16].</i>	16
<i>Tableau IV: Répartition des déclarations des cas d'intoxications selon le toxique incriminé, CAPM, 2018.</i>	17
<i>Tableau V: Répartition des cas d'intoxications déclarés selon la circonstance, CAPM, 2018 [16].</i> .	18
<i>Tableau VI: Principaux examens de biologie, standard utiles dans les intoxications aiguës [22].</i>	28
<i>Tableau VII: Principaux toxiques à rechercher en fonction des signes cliniques décrits [22].</i>	30
<i>Tableau VII: les prélèvements d'autopsie nécessaires à la bonne exécution des expertises toxicologiques [25].</i>	46
<i>Tableau IX: les réactions colorimétriques les plus utilisées en toxicologie hospitalière.</i>	71
<i>Tableau X: Molécules détectées dans les deux échantillons par les deux modes de recherche.</i>	166



Sommaire

SOMMAIRE

PARTIE THEORIE :	1
I. GENERALITES :	3
1.1. Historique	3
1.2. Définitions	4
1.2.1 Toxicologie	4
1.2.2 Toxique	5
1.2.3 Les types de toxiques	6
1.2.3.1 Toxique fonctionnel	6
1.2.3.2 Toxique lésionnel	7
1.2.4 Xénobiotique	8
1.2.5 Intoxication	8
1.2.6 Formes d'intoxications	9
1.2.6.1 Intoxications aiguës	9
1.2.6.2 Intoxications chroniques	10
1.2.7 Types d'intoxications	10
1.2.7.1 Empoisonnements criminels :	10
1.2.7.2 Empoisonnements suicidaires :	11
1.2.7.3 Empoisonnements accidentels :	11
1.3. Les cas épidémiologiques publiés par le centre antipoison	11
II. LES ETAPES DE DIAGNOSTIQUES D'UNE INTOXICATION	20
1. Examen clinique	20
1.1 Anamnèse	20
1.2 Examens complémentaires	22
2. Examens biologiques	24
3. Examens toxicologiques	29
III. DEMANDE D'ANALYSE TOXICOLOGIQUE	32

IV. PRELEVEMENTS EN TOXICOLOGIE	34
1. Prélèvements ante mortem	34
1.1 L'air expiré	34
1.2 Le sang.....	35
1.3 Les urines	37
1.4 Le liquide gastrique.....	39
1.5 Les cheveux	40
1.6. Sueur, Salive	42
2. Prélèvements post mortem	43
2.1 Le Sang	43
2.2 Les urines	44
2.3 Les cheveux	44
2.4 Les Viseres	44
2.5 .L'humeur vitrée.....	45
2.6 .Le contenu gastrique.....	45
2.7. La bile.....	45
V. PREPARATION DES ECHANTILLONS	48
1. Extraction des toxiques volatiles	48
1.1 Entraînement à la vapeur	49
1.2 Isolement des toxiques gazeux à partir de l'atmosphère.....	51
2. Extraction des toxiques extractibles	52
2.1 Extraction liquide-liquide :	52
2.2 Extraction Liquide_ solide.....	56
2.2.1 Méthodes discontinues :	56
2.2.1.1 Décoction.....	56
2.2.1.2 Infusion	56
2.2.1.3 Macération.....	56

2.2.1.4 L'extraction par solvant	57
2.2.2 Méthodes continues	57
2.2.2.1 Extracteur de SOXHELT :	57
2.2.2.2 L'extracteur de Kumagawa	59
2.3 Extraction en phase solide SPE.....	59
2.3.1 Principe.....	59
2.3.2 Technique d'extraction	60
3. Préparation pour analyse des métaux	62
3.1 La dilution :.....	62
3.2 La minéralisation.....	63
3.2.1 – Digestion par voie sèche :	63
3.2.2 – Digestion par voie humide par solubilisation.....	65
3.2.3 – Minéralisation assistée par micro-ondes (calcination) :.....	66
3.3 La chélation-extraction	67
VI. LES METHODES D'ANALYSE EN TOXICOLOGIE.....	69
1. Méthodes chimiques :	69
1.1. Colorimétriques.....	69
1.1.1 Principe.....	70
1.1.2 Appareillage	70
1.1.3 Avantages	70
1.1.4 Inconvénients	70
1.1.5 Applications : méthodes anciennes, mais parfois encore d'actualité.....	71
1.2. Méthodes volumétriques :	72
1.2.1Principe :	72
2. Méthodes immunologiques.....	74
2.1 Introduction	74
2.1.1 Techniques immunochimiques	74

2.1.2 Principe de l'immunochimie	75
2.1.3 Mécanisme	75
2.1.4 Applications.....	76
2.2 Immunodosage en phase hétérogène : RIA et ELISA	76
2.2.1 Principe.....	76
2.2.2 Mécanisme	77
2.2.3 Avantages et inconvénient.....	78
2.3 Immunochimie : technique EMIT	78
2.3.1 Principe.....	78
2.3.2 Avantages	80
2.3.3 Inconvénients	80
2.3.4 Résultats	81
2.4 Technique FPIA :	81
2.4.1 Principe.....	81
2.4.2 Avantages	82
2.4.3 Inconvénients	83
2.4.4 Résultats	83
2.4.5 Applications.....	83
2.5 La technique KIMS.....	83
3. Méthodes séparatives.....	84
3.1 Méthodes chromatographiques.....	84
3.1.1. Chromatographie sur couche mince	86
3.1.1.1 Principe	86
3.1.1.2 Appareillage [58].....	86
3.1.1.3 Description de la méthode	88
3.1.1.4 Avantages.....	89
3.1.1.5 Inconvénients.....	89

3.1.1.6 Applications	90
3.1.2 La chromatographie liquide haute performance HPLC :	90
3.1.2.1 Appareillage :	91
3.1.2.2 Avantages	98
3.1.3.3 inconvénients	98
3.1.3.4 Applications	98
3.1.3 La chromatographie ultra performance en phase liquide	98
3.1.3.1 Principe :	98
3.1.3.2 Appareillage :	99
3.1.3.3 Avantage et inconvénients de l'UHPLC par rapport de HPLC	102
3.1.4 La chromatographie Supercritique (SFC)	103
3.1.4.1 Principe	103
3.1.4.2 Appareillage :	103
3.1.5 La chromatographie en phase gazeuse	105
3.1.5.1 Principe	105
3.1.5.2 Appareillage.....	105
3.1.5.4 Avantages.....	111
3.1.5.5 Inconvénients.....	111
3.2 Electrophorèse capillaire	111
3.2.1 Principe de l'électrophorèse capillaire	113
3.2.2 Applications.....	116
3.2.3 Les différentes techniques d'électrophorèse capillaire.....	117
3.3 Méthodes d'analyses atomiques	118
3.3.1. Spectrométrie d'absorption atomique	118
3.3.1.1 Principe	118
3.3.1.2 Appareillage.....	119
3.3.1.2.1 La source (générateurs de photons).....	119

3.3.1.2.2 - Les générateurs de vapeur atomique	122
3.3.1.2.3 - Sélecteur de longueur d'onde	124
3.3.1.2.4 - Le système de lecture	124
3.3.1.2.5 - Les différents types de spectrophotomètres	124
3.3.1.2.6 – Les dispositifs de correction des absorptions non spécifiques :	125
3.3.1.2.7- Avantages	127
3.3.1.2.8- Inconvénients	127
3.3.2 Spectrométrie d'émission atomique :	127
3.3.2.1 Principe :	128
3.3.2.2 Appareillage	128
3.3.3. Spectroscopie infrarouge	132
3.3.3.1 Principes de la spectroscopie infra-rouge	132
3.3.3.2 Appareillage :	133
3.3.4. Spectrométrie de masse	137
3.3.4.1 Principe	137
3.3.4.2 Appareillage	138
3.3.5 La résonance magnétique nucléaire (RMN)	140
3.3.5.1 Principe :	140
3.3.5.2 Appareillage :	141
VII. VALIDATION D'UNE METHODE ANALYTIQUE :	144
PARTIE PRATIQUES	148
I INTRODUCTION :	149
II MATERIEL ET METHODE :	152
1. Liste des réactifs :	152
2. Matériel commun :	152
3. Système chromatographique :	152
4 Spectromètre de masse :	153

5 Préparation des échantillons	156
5.1 Préparation des réactifs d'extraction :	156
5.2 Procédure d'extraction	156
III RESULTATS :	158
1 Résultat de l'échantillon sérique :	158
1.1 Recherche ciblée (mode MRM)	158
1.2 Recherche large (mode Full Scan)	159
2 Résultat de l'échantillon urinaire :	160
2.1 Résultat de la recherche ciblée (mode MRM)	160
2.2 Recherche large (mode Full Scan)	161
IV DISCUSSION :	163
CONCLUSION GENERALE	167
RESUMES	169
REFERENCE :	173

Partie théorique



Généralités

I. GENERALITES :

1.1. Historique

On s'accorde pour donner au mot toxicologie une origine grecque, «toxicon», qui désigne un arc et surtout les flèches empoisonnées faisaient usage pour tuer efficacement leurs ennemis. D'autres croient que le nom proviendrait de «taxus», l'arbre qui servait à la fois à la confection des flèches et dont on extrayait des baies toxiques un poison servant à enduire le bout de ces flèches.

Cette science a eu des débuts, à vrai dire, bien incertains, dans la plus haute antiquité. Les poisons organiques, puis les poisons minéraux, ont été employés par les Egyptiens, par les Grecs, par les Romains et par les Barbares [1]. Leurs emplois à des fins criminelles aient été poursuivis au cours du moyen âge et la renaissance, ce n'est qu'au début du XVIIIe siècle et principalement au XIXe siècle que la toxicologie était devenue réellement une discipline scientifique [2].

D'une certaine façon, on peut dire qu'il s'agissait donc, à l'origine, de l'art de confectionner des poisons. On raconte ainsi que le roi Mithridate consommait régulièrement des décoctions contenant plusieurs dizaines de poisons pour se protéger d'un attentat de ses ennemis. Il aurait si bien réussi que, fait prisonnier, il a essayé de se suicider à l'aide de poisons, mais sa tentative s'est terminée par échouer. Le mot «mithridatisation» désigne aujourd'hui l'accoutumance ou «l'immunité» acquise à l'égard des poisons par exposition à des doses croissantes de ces derniers [3].

On connaît aussi le père de la toxicologie, Paracelse, et sa phrase célèbre : «C'est la dose qui détermine si une chose est un poison». Un autre aspect du développement de la toxicologie mérite un détour. Le célèbre physiologiste

Claude Bernard avait observé que, en plus de leur utilisation pour détruire la vie ou pour guérir, les poisons constituent un moyen précieux dans les mains des physiologistes. En permettant l'étude des phénomènes causant la mort, ceux-ci permettaient en même temps de comprendre les mécanismes physiologiques de la vie [3].

Ce bref voyage dans l'Histoire nous a donc menés de l'art à la science de la toxicologie. Aujourd'hui, la définition de la toxicologie associe les deux facettes l'art et la science. La science de la toxicologie est largement empirique et se fonde sur des observations factuelles. Elle étudie la toxicocinétique, la toxicodynamie et les mécanismes d'action. Le domaine de la toxicologie, c'est un art de l'évaluation du risque, nous amène à dévoiler la toxicité des substances dans des circonstances données. Le toxicologue doit souvent recourir à l'une et l'autre de ces facettes, mais éviter de considérer comme des faits ce qui ne serait que des prédictions, aussi éclairées fussent-elles [3].

1.2. Définitions

1.2.1 Toxicologie

La toxicologie était toujours reconnue comme étant la science des poisons. Elle étudie les effets nocifs et néfastes des substances chimiques sur les organismes vivants. Elle s'intéresse à plusieurs secteurs de l'activité humaine et elle fait appel à différents types de multitudes scientifiques comme l'agriculture, l'alimentation, l'industrie pharmaceutique, l'environnement, etc [4].

1.2.2 Toxique



Figure 1 : symbole d'une substance toxique.

Un toxique, ou un poison est une substance néfaste capable de troubler le fonctionnement normal d'un organisme vivant [5], pouvant aller jusqu'à leur suppression complète et amener la mort :

- de façon passagère ou durable,
- dans l'immédiat, à court terme ou à long terme,
- quel que soit la voie,
- à dose relativement élevée, administrée en une fois ou plusieurs fois très rapprochées,
- ou par petites doses longtemps répétées [6], [7].

Il peut être de source naturelle (ex. : poussières, pollen) ou artificielle (ex. : uréeformaldéhyde), ou de nature chimique (ex. : acétone) ou biologique (ex. : aflatoxines, anthrax).

On peut le contracter par tout partout dans l'air que nous respirons, dans nos aliments, nos médicaments, nos produits cosmétiques, etc. et nous y sommes fréquemment exposés, dans notre milieu de travail [5].

1.2.3 Les types de toxiques

1.2.3.1 Toxique fonctionnel

.C'est un poison qui génère une atteinte transitoire d'une fonction de l'organisme ou d'un organe sans créer de lésions et elle est généralement réversibles [8], dont la concentration dans le sang reflète de la gravité.

- Symptômes et sévérité dépendent de la concentration du toxique au niveau de la cible.
- Bonne corrélation effet / concentration plasmatique.
- Évolution favorable en l'absence de complication [5].

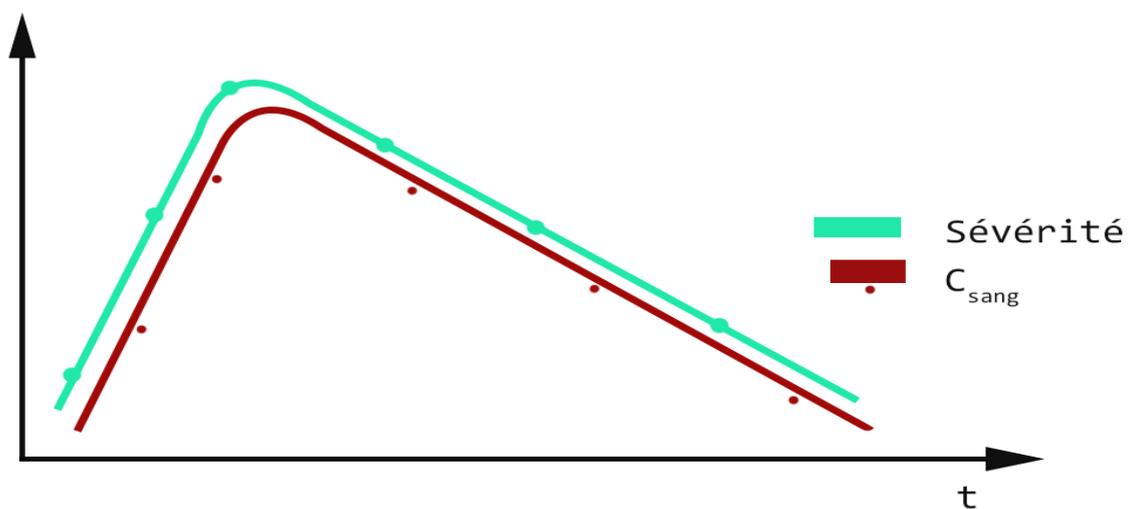


Figure 2 : comparaison de la gravité des symptômes avec la concentration dans le sang en fonction du temps [9].

1.2.3.2 Toxique lésionnel

Un toxique lésionnel cause une lésion à un ou à plusieurs tissus ou organes sans que le sujet présente des signes cliniques et sont souvent irréversibles [5], dont la concentration du toxique permet un pronostic, à l'instant «t », la concentration est le reflet de l'évolution en future responsable des lésions des organes ou des cellules cibles.

- Symptômes sans rapport avec la concentration plasmatique.
- Interprétation des troubles en fonction du délai d'ingestion.
- Risque de séquelles

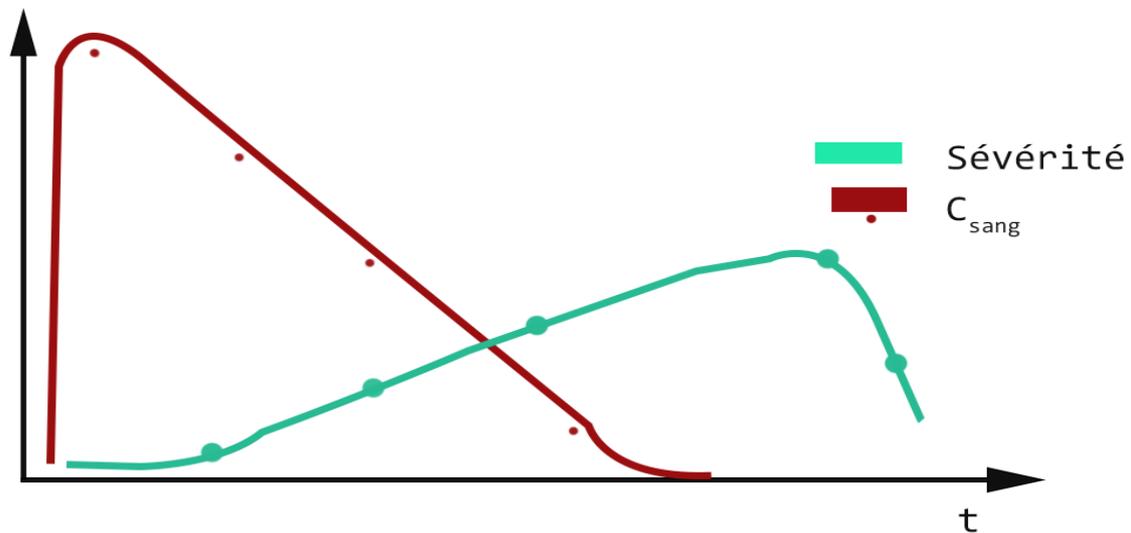


Figure 3 : comparaison de la gravité des symptômes avec la concentration en fonction du temps [9].

1.2.4 Xénobiotique

Un xénobiotique est un corps étranger qui peut être toxique ou non (médicament bien dosé), qui s'est greffé à un organisme vivant par voie moléculaire. Le terme renvoie à toutes les substances chimiques qui ne sont pas nécessaires à la vie, mais font tout de même partie de la composition des êtres vivants. A vrai dire un xénobiotique est une substance présente dans l'organisme vivant mais qui lui est étrangère et qui n'est pas apportée par son alimentation naturelle. C'est le plus souvent une molécule chimique [10]. Ce sont de grands polluants et contaminants, car ils résistent à la biodégradation et s'accumulent dans les sols, l'eau et les organismes. [11].

1.2.5 Intoxication

Une **intoxication** est un ensemble de troubles et perturbations du fonctionnement de l'organisme dus à l'absorption d'une substance étrangère, elle peut être accidentelle ou volontaire (tentative de suicide). La substance ingérée peut être directement toxique ou le devenir en fonction de la quantité présente dans l'organisme de la victime [7].

L'absorption du toxique peut se faire

- par inhalation (aspiration, respiration d'un aérosol (gaz ou vapeur, brouillard, fumée) ou de poussières).
- par ingestion (boire, manger).
- par contact cutané (par diffusion à travers le derme et l'épiderme).
- par injection directe dans le sang (voie parentérale, rapide ou lente) [5].

1.2.6 Formes d'intoxications

Deux formes, les intoxications aiguës sont provoquées par la pénétration unique et massive d'un poison dans l'organisme pourtant les intoxications chroniques, se font par pénétration de petites quantités non toxiques prises isolément, avec une exposition répétitive pendant de longues périodes peut occasionner des phénomènes toxiques, voire la mort [12].

1.2.6.1 Intoxications aiguës

L'intoxication aiguë (IA) est un état pathologique spécial, créé par l'entrée dans l'organisme, d'une substance toxique qui bouleverse l'équilibre vital, l'altère momentanément ou l'abolit [13], caractérisé par la rapidité d'apparition des effets [14].

Peu de signes cliniques permettent de faire un diagnostic certain d'intoxication.

L'intoxiqué est éveillé ou au contraire plongé dans un coma plus profond.

Tous les systèmes en fonction peuvent être atteints avec toutefois une certaine prédominance pour le système nerveux, pour l'appareil digestif si le poison a été ingéré, l'appareil respiratoire s'il a été inhalé, et les téguments s'il y a eu projection sur la peau .

Mais il ne s'agit pas là d'une règle, car le rein, le cœur, le muscle sont parfois touchés [12].

1.2.6.2 Intoxications chroniques

L'intoxication chronique est un état maladif qui résulte d'une exposition prolongée ou d'expositions répétées (effets cumulatifs) à une substance toxique [15].

Le diagnostic d'une intoxication chronique est quelquefois extrêmement difficile si un fait particulier n'attire pas l'attention [12].

Les signes cliniques sont très peu caractéristiques, et l'intoxication se traduit par des éruptions cutanées, des pigmentations caractéristiques, des modifications hématologiques, de l'insuffisance rénale, des troubles cardiovasculaires et digestifs qu'il est impossible de rapporter à un toxique. La plupart du temps, s'il n'y pas de preuves apportées par une enquête auprès du malade et de son entourage familial ou professionnel [12].

1.2.7 Types d'intoxications

On peut distinguer les intoxications criminelles, suicidaires et accidentelles. Ces derniers sont de plus en plus nombreux en raison des milliers des produits toxiques actifs utilisés, tant en milieu domestique et professionnel qu'en matière de thérapeutique.

Les intoxications médicamenteuses sont fréquentes. Les drogues utilisées sont fréquemment actives [12].

1.2.7.1 Empoisonnements criminels :

Les empoisonnements criminels sont devenus rares. Les produits les plus dangereux (arsenic, cyanure...) sont très réglementés et d'accès difficile. Certains cas, souvent au sein des professions de santé, ont leur origine dans des médicaments hypnotiques ou curarisants [12].

1.2.7.2 Empoisonnements suicidaires :

Les empoisonnements suicidaires sont essentiellement médicamenteux. Ils sont parfois causés par des produits domestiques. L'oxyde de carbone, jadis présent dans le gaz d'éclairage et les gaz d'échappement, n'est plus guère utilisé et utilisable [12].

Les médicaments sont largement en cause mais leur efficacité a considérablement baissé du fait des progrès de la réanimation qui permet de palier la plupart de ces intoxications. Les suicides médicamenteux réussis sont devenus exceptionnels [12].

1.2.7.3 Empoisonnements accidentels :

La multiplication des produits actifs utilisés explique le grand nombre d'intoxications accidentelles tant domestiques que professionnelles.

Les enfants sont les principales victimes (solvants, produits déboucheurs, médicaments...).

Il peut s'agir d'intoxications accidentelles domestiques ou professionnelles ou médicamenteuses [12].

1.3. Les cas épidémiologiques publiés par le centre antipoison

Le Centre Anti Poison du Maroc (CAPM) est un centre national dédié à la gestion des problèmes toxicologiques, qui dessert toute la population marocaine, à partir du rapport annuel des intoxications au Maroc, de l'année 2018, publié par le centre antipoison, on va décrire les caractéristiques des intoxications déclarées [16].

En effet, des activités en amont et en aval de l'Information Toxicologique permettent de collecter l'information, de tracer l'épidémiologie des intoxications en terme de distribution spatiale et temporelle, en identifiant les groupes à risque et les conduites thérapeutiques suivies par les professionnels de santé. Les connaissances ainsi acquises permettent de définir les stratégies de prévention, de prise en charge et de formation et d'information basées sur des réalités épidémiologiques [16].

Elle a concerné tous les cas répondant à la définition d'un cas d'intoxication.

Le CAPM a reçu 10 895 cas d'intoxications durant l'année 2018 (en dehors des PES), soit une diminution de 35,55% par rapport à l'année précédente (Fig1).

Les déclarations étaient plutôt passives en 2018 avec 90,7% (Tableau I).

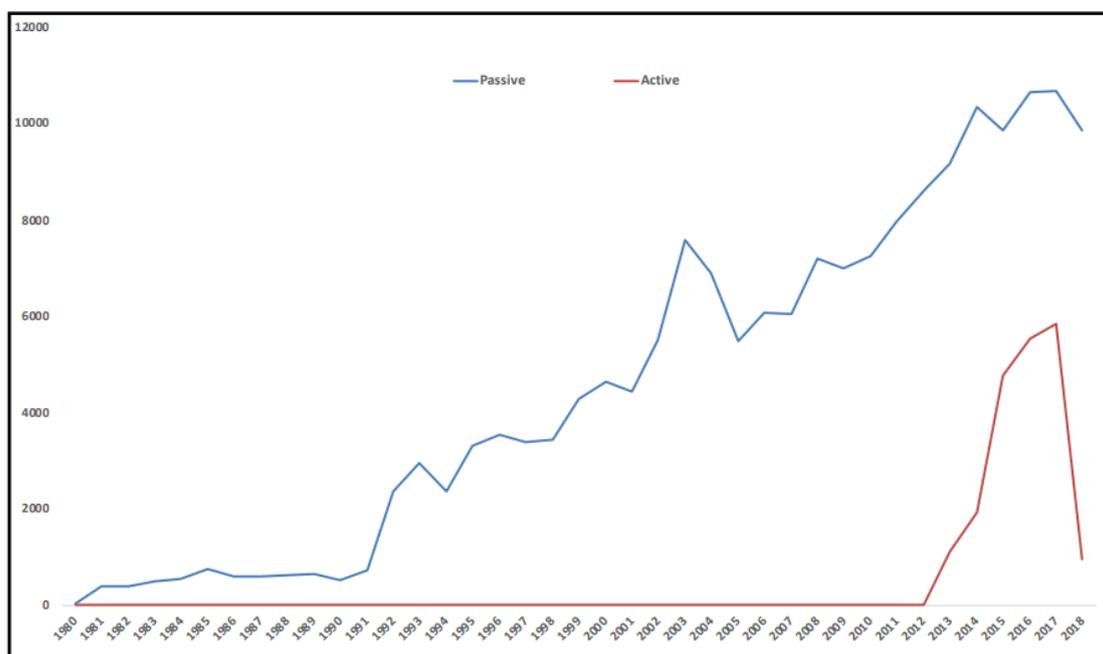


Figure 4 : Evolution des déclarations des cas d'intoxications selon le système d'information et l'année, CAPM, 1980-2018 [16].

- L'incidence la plus élevée des déclarations a été enregistrée au niveau de la région de Laâyoune-Sakia-El-Hamra (81,2 pour 100 000 habitants) suivie de la région de Rabat-Salé-Kénitra (40,7 pour 100 000 habitants) et de la région de Fès- Meknès (35,5 pour 100 000 habitants) (Tableau II).

- L'incidence des déclarations par les professionnels de santé était de 307,69 par 1000 professionnels de santé et celle des déclarations par le public de 30,27 déclarations par million d'habitants [16].

La répartition des déclarations montre qu'elles sont parvenues par :

Tableau I : répartition des cas en fonction du mode de recueil par CAPM, 2018.

Mode de recueil	Nombre de cas déclarés 2017	Nombre de cas déclarés 2018
PASSIF	10702	9877
Téléphone	5420	5474
Courrier	5282	4403
ACTIF	6131	966
A travers les études et les enquêtes	5870	966
Presse	261	42
Total	17094	10885

- La validation des cas déclarés s'est faite au jour le jour par un médecin responsable. Les cas ne répondant pas à la définition et les doublons ont été exclus.

Cette analyse a mis en évidence des causes multiples qui peuvent être résumées en causes socioéconomiques, le manque d'implication multisectorielle, l'existence d'un secteur informel donc non contrôlé, les traitements traditionnels, les habitudes transmises de bouche à oreille, le manque de formation des herboristes ou le manque de contrôle tout au long de la chaîne de la production à la vente [16].

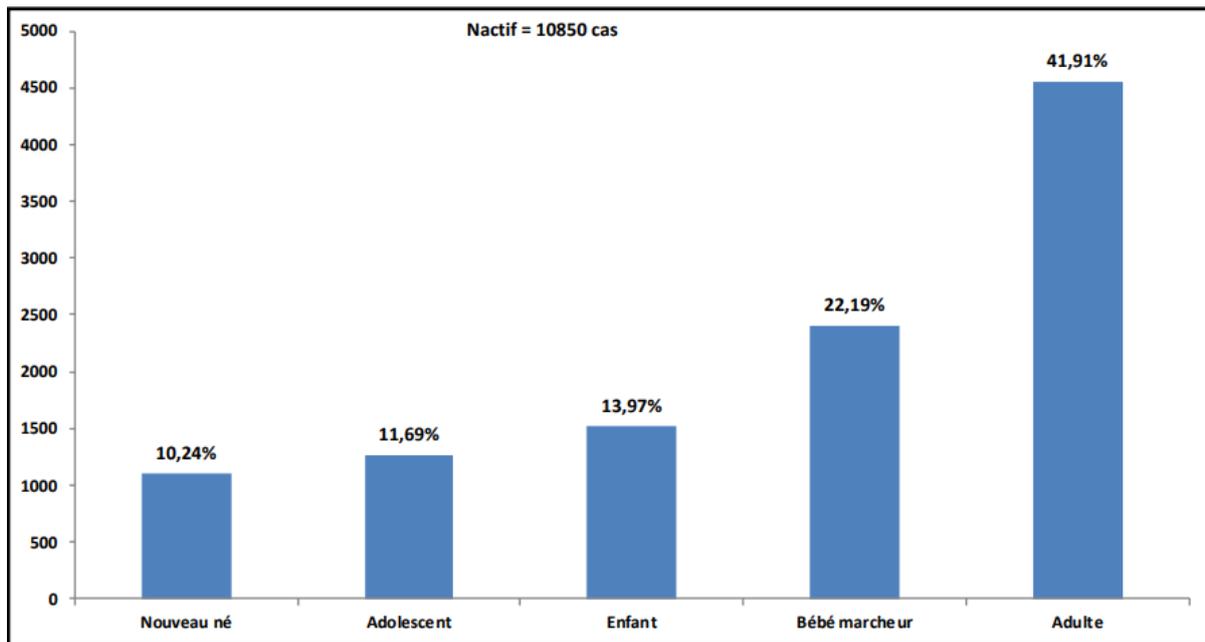


Figure 5 : Répartition des déclarations des cas d'intoxications selon la tranche d'âge, CAPM, 2018 [16].

Les cas d'intoxications déclarés se sont produits essentiellement à domicile (89,8%), dans des lieux publics (6,7%) ou dans d'autres lieux (milieu professionnel, prison, écoles et internats, institutions de santé) dans 3,4% des cas. Ces cas se sont produits dans une circonstance accidentelle dans 82,6% des cas (Tableau III).ils étaient isolés dans 84,8% des cas. La voie d'intoxication incriminée dans ces cas d'intoxication était la voie orale (64,3%), la voie inhalée

(20,8%) puis la voie cutanée (10,4%). La gradation selon le Poisoning Severity Score a révélé que les cas d'intoxications étaient essentiellement de gravité modérée (grade 2) 38,9%. L'année 2017 a connu l'enregistrement de 122 cas de décès soit une mortalité de 0,35 pour 100 000 habitants et une létalité de 0,72% [16].

Tableau II: Incidence pour 100 000 habitants des cas d'intoxications selon les régions, CAPM, 2018 [16].

	Effectifs	pop (2018)	Incidence
Dakhla-Oued Ed Dahab	17	165250	10,29
Souss-Massa	389	2 817 204	13,70
Guelmim-Oued Noun	77	441800	17,43
Béni Mellal-Khénifra	500	2 581 703	19,37
Drâa-Tafilalet	377	1 673 773	22,52
L'Oriental	632	2 402 374	26,31
Casablanca-Settat	2081	7 218 021	28,83
Tanger-Tétouan-Al Hoceïma	1111	3 725 192	29,82
Marrakech-Safi	1601	4 687 947	34,15
Fès-Meknès	1544	4 347 958	35,51
Rabat-Kenitra	1942	4 769 423	40,72
Laâyoune-Sakia El Hamra	316	388902	81,25
Total	10268	34 830 645	29,48

Tableau III: Taux de létalité spécifique selon la famille de toxique, CAPM, 2015-2018 [16].

Famille de toxiques	Létalité spécifique % 2015	Létalité spécifique % 2016	Létalité spécifique % 2017	Létalité spécifique % 2018
Aliments	0,2	0,1	0,30	0,15
Serpents	3,4	1,2	1,96	1,71
Médicaments	0,5	0,3	0,10	0,26
Pesticides	2,9	3,3	2,52	1,94
Plantes	3,9	3,7	2,03	5,95
Produits gazeux	0,2	0,2	0,36	1,73
Produits industriels	0,4	0,7	0,14	0
Produits d'entretien ménager	0,4	0,3	0,24	0,38
Drogues	0	0	0	1,19
Produits cosmétiques	0	0	0	3,41
Létalité générale	0,83	0,85	0,82	0,84

Durant l'année 2018, le système de toxicovigilance a pu détecter 21 signaux dont 9 ont été validés en alertes (41%). Les signaux concernant les drogues étaient en tête (7 signaux) dont 3 ont été validés en alertes, suivis des signaux concernant les produits alimentaires (6 signaux) dont aucun n'a été validé en alertes et des signaux concernant les plantes (3 signaux) dont 1 validé en alerte.

Trois alertes ont été publiées dans la revue Toxicologie Maroc : l'intoxication par l'acide Gamma Hydroxy Butyrique, l'intoxication par l'éthanol et son risque hémorragique, et l'épisode de botulisme, à l'origine de 3 décès.

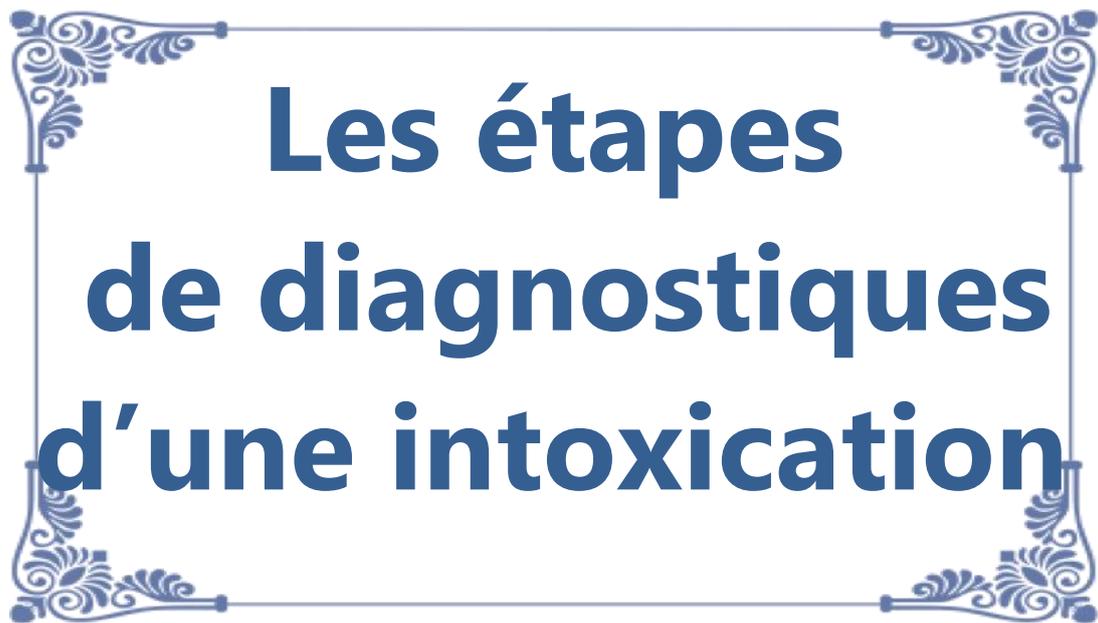
Le signal sur l'augmentation des cas d'intoxication par le plomb a concordé avec une étude sur la teneur en plomb des peintures vendues sur le marché marocain, qui a montré la présence de plomb à des normes dépassant les seuils recommandés. Suite à cette étude et à l'alerte, un comité de normalisation a été créé par l'IMANOR pour normaliser la teneur en plomb des peintures vendues sur le marché marocain. [16].

Tableau IV: Répartition des déclarations des cas d'intoxications selon le toxique incriminé, CAPM, 2018.

Famille de Toxiques	Effectifs	Pourcentage
médicaments	3428	31,5
Aliments	1960	18,0
Gaz	1388	12,7
Pesticides	1136	10,4
Produits d'entretien ménager	524	4,8
Produits industriels	499	4,6
Animaux	468	4,3
Inconnu	463	4,2
Serpents	350	3,2
Drogues	350	2,3
Plantes	168	1,5
Scorpions	106	1,0
Produits cosmétiques	88	0,8
Autres	59	0,5
Métaux lourds	6	0,1
Total	10895	100,0

Tableau V: Répartition des cas d'intoxications déclarés selon la circonstance, CAPM, 2018 [16].

Circonstance		Effectifs	Pourcentage
ACIDENTELLE N=5222 (69 ,95%)	Classique	3208	42,97
	Alimentaire	1543	20,67
	Erreur thérapeutique	188	2,52
	Effet indésirable	232	3,11
	Professionnelle	51	0,68
VOLONTAIRE N=2234(30,05%)	Toxicomanie	104	1,39
	Suicidaire	2121	28,41
	Avortement	7	0,09
	Criminelle	11	0,15
N		7465	100,00



Les étapes de diagnostics d'une intoxication

II. LES ETAPES DE DIAGNOSTIQUES D'UNE INTOXICATION

La prise en charge d'une intoxication basée essentiellement sur l'anamnèse et sur l'identification d'un toxidrome à partir de l'évaluation clinique et biologique [17].

Les analyses toxicologiques peuvent compléter l'évaluation clinico-biologique

1. Examen clinique

1.1 Anamnèse

L'examen clinique débute par l'anamnèse, signifie littéralement « action de rappeler à la mémoire », est souvent la source la plus précieuse de renseignements.

Les premières informations à recueillir concernent l'état civil du patient. Le sexe et l'âge constituent dans certaines intoxications un élément pronostic et parfois décisionnel.

Ne pas négliger la profession du patient c'est une information essentielle. Les professions médicales sous un grand risque d'intoxications par curare, potassium, insuline, barbituriques rapides dont le risque est majoré par l'utilisation de produits de formes injectables dont la cinétique est contraire.

Pharmaciens et chimistes sont à risque d'intoxications par cyanure et arsenic et les vétérinaires par euthanasiant. La connaissance des antécédents du patient est importante à plusieurs titres. D'une part, elle conditionne les traitements en cours dont la connaissance constitue un précieux élément

d'orientation. L'expérience montre que le plus souvent les patients s'intoxiquent avec leur traitement. D'autre part, les antécédents peuvent constituer des éléments pronostiques ou décisionnels dans certaines intoxications [18].

La connaissance des conditions d'apparition de l'intoxication est vitale, La nature du toxique (l'emballage doit être amené avec le patient à l'hôpital), la voie de pénétration, la quantité incriminée, la chronologie de l'intoxication et la symptomatologie initiale doivent être précieusement accueillies et assemblés. La composition exacte d'un produit industriel ou domestique, peut, toujours plus, être donnée par le Centre antipoison (CAP), à partir de l'emballage.

Comme nombre de patients (p. ex., enfants qui ne parlent pas encore, adultes suicidaires ou psychotiques, patients présentant une altération de la conscience) ne peuvent pas fournir des informations fiables, il faut interroger leurs amis, leur famille et les secours. Même le patient apparemment fiable peut se tromper sur la quantité ou le moment de l'ingestion. Lorsque cela est possible, le logement du patient doit être inspecté à la recherche d'indices (p. ex., boîtes de médicaments en partie vides, de lettre de suicide, de signes de toxicomanie récréative). Le dossier pharmaceutique et médical peut apporter des informations utiles [19].

L'examen clinique constitue ensuite le centre de la démarche d'identification du toxique. En dehors de son intérêt pour évaluer la gravité de l'intoxication, il permet, exclusivement, de confirmer la prise d'un toxique suspecté, d'identifier un toxique méconnu et d'orienter les examens complémentaires. La confirmation de la prise d'un toxique suspecté repose sur le principe d'une adéquation parfaite entre les signes attendus en présence de ce toxique et le tableau clinique observé. Tous les effets du toxique doivent être

retrouvés chez le patient et tous les symptômes du patient doivent être expliqués par le toxique. La réciprocité doit être parfaite. Dans le cas contraire, le diagnostic d'intoxication doit être remis en cause. Il peut ne pas s'agir d'une intoxication, ou il peut s'agir d'une complication ou d'un toxique « caché ».

Si le diagnostic d'intoxication s'affiche avec force, toute autre cause au tableau observé ayant été écartée, mais que la nature du toxique n'est pas connue, l'examen clinique oriente les examens complémentaires.

D'une manière plus générale, on peut trouver pour chaque anomalie clinique observée une liste de toxiques éventuellement responsables. Ces listes construites par organes puis par symptômes constituent des éléments d'orientation très précieux, en présence d'un tableau clinique, d'identifier un toxique responsable [18].

1.2 Examens complémentaires

❖ Électrocardiogramme

Certaines perturbations électrocardiographiques sont évocatrices d'intoxications très spécifiques et sont souvent un reflet précis de la toxicité et de la gravité un élargissement des complexes QRS (bloc intraventriculaire) doit faire suspecter une intoxication avec une substance stabilisante de membrane (anti-arythmiques de classe I, antidépresseurs tricycliques, certains bêtabloquants, chloroquine) ou une hyperkaliémie. Comme traitement dans ces cas est l'administration de bicarbonates de sodium molaires. Un bloc auriculoventriculaire (BAV) doit faire évoquer une intoxication par des digitaliques ou des inhibiteurs calciques [20].

❖ Examens radiologiques

Ils ont des indications très peu spécifiques pour déterminer la présence de lésions ou de complications (radiographie du thorax en cas d'œdème pulmonaire, d'atélectasie, de pneumopathie) ou éliminer une cause cérébrale à l'origine d'un coma (scanner crânien). Dans des cas ils confirment ou orientent le diagnostic, aussi bien la présence d'opacités à la radiographie de l'abdomen permet de confirmer la réalité d'une ingestion de métaux, de solvants chlorés, de comprimés radio-opaques comme (clomipramine, chlorure, permanganate de potassium) ou d'emballages de produits toxiques (body-packer) [20].

❖ Électroencéphalogramme

Il est prescrit dans le cas d'un coma vaguement établie en montrant des modifications du tracé compatibles avec une intoxication médicamenteuse. Il garde sa valeur en cas d'état de mal convulsif ou myoclonique et dans le suivi des comas pos anoxiques [20].

❖ Endoscopie digestive

Elle est indiquée en cas d'ingestion de produits caustiques ou corrosifs afin de vérifier l'importance des lésions et de définir la stratégie thérapeutique. Son indication pour l'extraction d'emballages contenant les produits toxiques (body-packer) n'est plus recommandée car il y'a un grand risque de rupture de l'emballage lors des manœuvres d'extraction [20].

2. Examens biologiques

Les examens biologiques ne sont pas nécessaires dans la démarche d'identification des toxiques. Un bilan biologique inclut une gazométrie du sang artériel et un ionogramme sanguin, et est aisément disponibles, à chaque instant et les résultats peuvent être obtenus dans des minutes. Ces examens complémentaires de base permettent d'adapter le maximum le traitement du patient. Mais souvent ils permettent de confirmer un diagnostic suspecté et au moins, d'orienter d'éventuelles analyses toxicologiques. Fréquemment, les anomalies des paramètres biologiques de base constituent des critères de gravité reconnus d'intoxications [20].

❖ Glycémie

La recherche d'une hypoglycémie doit être d'une façon constante. L'insuline ou les hypoglycémiant oraux engendrent des hypoglycémies prolongées tandis que celles dues à d'autres toxiques (alcool et aspirine chez l'enfant) sont le plus souvent durent peu et facilement corrigées.

L'hyperglycémie a un intérêt d'orientation quand elle s'intègre dans un syndrome hyper adrénergique [20].

❖ Natrémie

Les perturbations de la natrémie sont surtout causées par le traitement : hyponatrémie par dilution liée à un lavage gastrique excessif, hypernatrémie due à l'administration de bicarbonates de sodium hypertoniques lors des intoxications par stabilisateurs de membrane [20].

❖ Kaliémie

Les perturbations peuvent être en relation soit à une augmentation ou diminution de l'élimination du potassium, ou bien un apport excessif mais ce sont principalement les dyskaliémies dues à un transfert qui ont une valeur diagnostique puisqu'elles reflètent directement l'effet du toxique.

L'hyperkaliémie de l'intoxication digitalique aiguë est due à l'inhibition de l'ATPase membranaire et possède un critère de gravité. Dans l'intoxication par la chloroquine, le degré de l'hypokaliémie est automatiquement corrélé avec la sévérité de l'intoxication. L'hypokaliémie examinée avec les stupéfiants (cocaïne et amphétamines) ou la théophylline est secondaire à l'hyperstimulation adrénergique [20]. Les diurétiques sont la cause la plus fréquente d'hypokaliémie [21].

❖ Chlorémie

Une hyperchlorémie importante, en absence d'hypermnatrémie doit faire évoquer une intoxication par le brome par interférence avec le dosage avec le brome [20].

❖ Calcémie

C'est rare quand on observe une hypercalcémie (intoxications chroniques médicamenteuses par les vitamines A et D et les sels de calcium). Les hypocalcémies graves sont observées lors des cas d'intoxications par les chélateurs de l'ion calcium comme l'acide fluorhydrique, les fluorures et l'acide oxalique. Elles engendrent des troubles cardiaques parfois sévères [20].

❖ Osmolalité

Une hyperosmolalité non expliquée par le glucose, l'urée et les électrolytes entraîne un trou osmolaire (différence entre osmolalité mesurée et osmolalité calculée), déclare la présence dans le plasma d'une substance non dosée usuellement et doit faire soupçonner une intoxication par éthanol, méthanol, glycol ou acétone. L'osmolalité (mmol/L) peut être calculée par l'équation suivante :

osmolalité calculée (mmol/L) = $1,86 \text{ Na} + \text{urée} + \text{glucose}/0,93$ (le sodium, le glucose et l'urée étant exprimés en mmol/L) [20].

❖ Troubles de l'équilibre acide-base

Les acidoses ou alcaloses respiratoires ne expriment aucun particularité et sont en relation avec les effets respiratoires centraux ou périphériques des toxiques. En cas d'acidose métabolique, surtout les acidoses avec trou anionique augmenté qui présentent un intérêt diagnostique. Un trou anionique élevé déclare une accumulation d'anions acides, le plus souvent de lactates.

L'hyperlactatémie peut être faite soit par une anoxie cellulaire par hypoperfusion tissulaire (état de choc, convulsions) ou par diminution du contenu artériel en oxygène (monoxyde de carbone, méthémoglobinémie), soit à un défaut d'utilisation cellulaire de l'oxygène (cyanure), soit à une augmentation de la production hépatique de lactates (biguanides, éthanol). Une augmentation du trou anionique sans hyperlactatémie traduit la présence d'anions acides soit d'origine exogène (chlorure d'ammonium), soit due à des métabolites de certains toxiques comme le méthanol, l'éthylène glycol ou les salicylés. L'association d'un trou anionique et d'un trou osmolaire doit faire penser en priorité une intoxication par le méthanol ou l'éthylène glycol [20].

❖ Hémostase et coagulation

Les perturbations d'hémostase et la coagulation dues à des complications (hépatites, CIVD) ou à des effets directs du toxique (hypoprothombinémie due aux antivitaminiques K, hypofibrinogénémies dues aux venins de serpents) [20].

❖ Créatinine phosphokinases

Une augmentation des créatinines phosphokinases est observée au cours des intoxications, plusieurs toxiques sont responsables et les causes sont nombreuses : compression musculaire par décubitus prolongé, convulsions, hypokaliémie, hyperthermie, syndrome malin aux neuroleptiques, effet toxique musculaire direct au cours des intoxications par l'alcool, le monoxyde de carbone, les venins de serpents [20].

❖ Transaminases

L'augmentation des transaminases pendant des hépatites toxiques permet d'apprécier l'importance de la cytolyse et de l'agression toxique [21].

❖ Méthémoglobine

Le degré de la méthémoglobinémie énoncé en pourcentage de l'hémoglobine totale est corrélé avec les symptômes cliniques. Et comme causes on trouve le plus souvent les nitrites, les nitrates, les gaz nitreux, les chlorates, les sulfones, les dérivés nitrés du benzène et du toluène [20].

❖ Cholinestérases

L'abaissement de l'activité des cholinestérases plasmatiques et surtout érythrocytaires est un signe direct de la sévérité des intoxications par les insecticides organophosphorés et à structure carbamate [20].

❖ Atteintes hématologiques

Elles sont rarement inaugurales et isolées. Les mécanismes sont très variés : effet toxique direct, mécanisme immuno-allergique. Une hémolyse intravasculaire est rarement trouvée et n'est observée qu'avec des toxiques particuliers, comme les chlorates, l'hydrogène arsénié [20].

Tableau VI: Principaux examens de biologie, standard utiles dans les intoxications aiguës [22].

Biomarqueurs	Toxiques
Ammoniémie augmentée	Acide valproïque
Transaminases augmentées	Paracétamol, amanite phalloïde, acide valproïque
Calcémie abaissée	Antirouilles (acides oxalique et fluorhydrique)
Pseudo-hyperchlorémie	Bromures
Baisse d'activité des cholinestérases globulaires/plasmatisques	Insecticides et neurotoxiques organophosphorés
Créatinine augmentée	Ethylène glycol
Gazométrie (hémoglobine anormale ou dépression respiratoire)	Monoxyde de carbone (HbCO, agents méthémoglobinisants (MetHb), opiacés
Gazométrie artérielle (acidose métabolique)	Salicylés, méthanol, éthylène glycol
Glycémie abaissée	Insuline, hypoglycémiant, éthanol, Fer
Peptide C discordante	Insuline
Hyperkaliémie	Digitaliques
Hypokaliémie	Chloroquine, théophylline, insuline
Lactates augmentées	Cyanures, hypoglycémiant (metformine), éthylène glycol, méthanol
Hyperleucocytose	Fer
Taux de prothrombine diminué, INR augmenté	AVK, raticide, colchicine, paracétamol, acide valproïque, amanite phalloïde
Temps de céphaline activé allongé	Héparines et dérivés
Trou anionique augmenté	Ethanol, méthanol, éthylène glycol, acétone, biguanide,
Trou osmolaire augmenté	Ethanol, méthanol, éthylène glycol, acétone.

3. Examens toxicologiques

Certainement l'intérêt de l'analyse toxicologique est le diagnostic. Pourtant, si le diagnostic est évident (histoire, symptomatologie), elle n'est pas indispensable sauf si elle ajoute un intérêt pronostique, thérapeutique ou médicolégal.

D'autre part, l'analyse toxicologique doit être ciblée par le clinicien en fonction des symptômes observés : une recherche de toxiques dans toutes les directions est souvent inutile et toujours coûteuse. Par ailleurs, les tests qualitatifs ou semi-quantitatifs qui sont exprimés en nombre de croix sont fréquemment peu informatifs et ont une sensibilité limitée. En urgence, une analyse toxicologique quantitative est obligatoire lorsqu'elle conditionne la stratégie thérapeutique tels l'administration d'un antidote ou d'un chélateur, doses répétées de charbon activé per os, épuration extrarénale [20].

C'est le cas particulièrement des intoxications par le paracétamol, les digitaliques, le lithium, la théophylline, les salicylés, le phénobarbital, la quinine, la carbamazépine, le méthanol, l'éthylène glycol, le fer et les métaux lourds.

En dehors de ces intoxications, l'analyse n'a pas ou peu d'incidence sur le traitement, qui est basé sur des données cliniques et/ou anamnestiques.

Pourtant, il est systématiquement de réaliser dans toute intoxication un prélèvement sanguin à titre conservatoire, car l'analyse pouvant être réalisée ultérieurement si nécessaire [20].

Tableau VII: Principaux toxiques à rechercher en fonction des signes cliniques décrits [22].

Atteinte cardiovasculaire	Troubles du rythme	ADT, Digitaliques Amphétamines, cocaïne Quinine, quinidine Bétabloquants, Sultopride Théophylline, Chloroquine Diltiazem, verapamil
	Collapsus cardiovasculaire	Phénothiazines, méprobamates
	Hypotension	ADT
Atteinte ventilatoire	Hypoventilation	Opiacés, Barbituriques Ethanol, BZD
	Hyperventilation	Monoxyde de carbone CO Méthanol, Ethylène glycol Salicylé
Atteinte neurologique	Coma	Alcool, Barbituriques BZD, AD Méprobamate, Phénothiazines Neuroleptiques sédatifs Opiacés, CO
	Convulsions	ADT, Salicylés Amphétamines Isoniazide, Théophylline Strychnine, chloracose Tramadol, Bupropion chloroquine
Atteinte pupillaire	Mydriase	ADT IMAO
	Myosis	Opiacés Organophosphorés



Demande d'analyse toxicologique

III. DEMANDE D'ANALYSE TOXICOLOGIQUE

C'est une demande à remplir par le clinicien, souvent en urgence.

Le formulaire doit être validé à la fois par le clinicien et le toxicologue.

DEMANDE D'ANALYSES TOXICOLOGIQUES		N° enregistrement labo :
Prélèvements effectués par le Dr		
Date :	Heure :	Signature :
RENSEIGNEMENTS SUR LA PERSONNE		MAGISTRAT REQUERANT
NOM :		NOM : Mr / Mme
PRENOM :		Fonction : JI / PR / 1 ^{er} SPR / SPR
Date de naissance :		Parquet :
SEXE : <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F		N° NOTICE :
Lien avec dossier en cours :		N° DOSSIER :
<input type="checkbox"/> PERSONNE VIVANTE	<input type="checkbox"/> PERSONNE DECEDEE	
Contexte de la demande d'examens :	Prélèvement :	
	<input type="checkbox"/> Lors de l'examen extérieur <input type="checkbox"/> Lors de l'autopsie <input type="checkbox"/> Après exhumation	
	<input type="checkbox"/> Découverte du cadavre	Date : Heure :
	<input type="checkbox"/> Décès supposé	Date : Heure :
Délai entre faits et prélèvements :	Circonstances du décès :	
	<input type="checkbox"/> Incendie <input type="checkbox"/> Arme blanche <input type="checkbox"/> Arme à feu	
	<input type="checkbox"/> Médicaments et/ou stupéfiants	<input type="checkbox"/> Pendoison
	<input type="checkbox"/> Autres :	
<input type="checkbox"/> Médicaments et/ou toxiques trouvés sur les lieux :		
<input type="checkbox"/> Traitement médicamenteux connu :		
<input type="checkbox"/> Toxicomanie(s) :		
OBSERVATIONS		
PRELEVEMENTS		
Nature		Quantité souhaitée
<input type="checkbox"/> Sang	<input type="checkbox"/> cardiaque	2 x 10 ml de sang avec et sans NaF
	<input type="checkbox"/> périphérique	2 x 10 ml de sang avec et sans NaF
		10 ml (seringue type gaz du sang pour produits volatils)
<input type="checkbox"/> Urine		30 à 50 ml
<input type="checkbox"/> Bile		10 ml
<input type="checkbox"/> Contenu gastrique	<input type="checkbox"/> Cerveau	10 g
<input type="checkbox"/> Foie	<input type="checkbox"/> Poumon	10 g
<input type="checkbox"/> Rein	<input type="checkbox"/> Cœur	10 g
<input type="checkbox"/> Cheveux		
	1 cm [] 1 cm	
<input type="checkbox"/> Muscle squelettique	30 à 50 g	
<input type="checkbox"/> Humeur vitrée : prélèvement particulièrement adapté pour glycémie si soupçon injection insuline		
<input type="checkbox"/> Autres :		
EXAMENS DEMANDES :		

Figure 6 : Modèle de demande d'analyse toxicologique [23].



Prélèvements En Toxicologie

IV. PRELEVEMENTS EN TOXICOLOGIE

L'échantillon est le premier maillon de la chaîne de l'analyse : la qualité du prélèvement va donc conditionner la qualité des résultats.

- Collecte suffisante d'échantillons à l'admission afin que des analyses rétrospectives restent possibles (si l'évolution clinique le rend nécessaire).
- Nécessité de procurer des échantillons adéquats au laboratoire : leur recueil doit être rigoureux et méthodique.
- Attention à la contamination du prélèvement par les solutions désinfectantes utilisées (alcool, produits iodés ou contenant du mercure).
- Pour optimiser les échantillons biologiques, il faut considérer :
 - La nature des échantillons à prélever
 - Leur délai d'acheminement au laboratoire
 - Leur modalité de conservation
 - Les informations indispensables avec la demande [24].

1. Prélèvements ante mortem

1.1 L'air expiré

Se fait dans un tube de 10 ml, prolonger une paille au fond du tube, après avoir demandé au patient d'inspirer profondément, lui demander de souffler dans la paille pendant 15 secondes jusqu'à ce qu'une condensation se montre au fond du tube.

Retirer la paille en demandant au patient de continuer à souffler et reboucher le tube instantanément [25].

Le prélèvement est effectué uniquement au laboratoire.

Conservation et transport à température ambiante

1.2 Le sang

Le sang est le liquide biologique le plus important pour le toxicologue, en vue d'une interprétation des résultats analytiques [24].

Seul milieu biologique pour lequel sont définis : des concentrations thérapeutiques, des concentrations toxiques, des concentrations létales [24].

Conditionnement

- Dans un flaconnage de préférence en verre et en présence d'un anticoagulant.
- Volume minimum à prélever = échantillon de 10ml, permettant d'effectuer un screening toxicologique incluant :
 - la plupart des psychotropes et des stupéfiants
 - les substances volatiles
 - l'alcool
 - les cyanures
 - le monoxyde de carbone
- En médecine légale :

Le prélèvement doit toujours se faire en double pour une éventuelle contre-expertise.

Avantages

- Obtention de résultats :
 - qualitatifs (screening toxicologique)
 - quantitatifs : les chiffres de concentrations dites thérapeutiques ou toxiques ne sont disponibles que pour le sang.
 - Les résultats quantitatifs permettront une évaluation du niveau d'imprégnation d'un sujet pour un analyte donné
- Le plasma est le plus souvent utilisé
- Remarque : pour certains xénobiotiques à répartition intracellulaire, on préfère le sang total :
 - les antipaludéens, à fixation intra-érythrocytaire
 - la ciclosporine
 - le lithium
 - Inconvénients
- La stabilité des xénobiotiques dans le sang est un problème majeur pour l'analyste :
 - dégradation in vitro -adsorption de l'analyte sur les parois du tube est parfois observée exemples :
 - cas des principes actifs du cannabis qui s'adsorbent sur les parois
 - la cocaïne est peu stable dans le temps
 - les benzodiazépines se dégradent rapidement

- La conservation doit être obligatoire au froid, après centrifugation pour séparer la phase plasmatique
- Délai d'acheminement au laboratoire doit être le plus court possible.

1.3 Les urines

Elles sont disponibles en quantité abondante, l'urine permet d'effectuer des recherches sur un grand nombre de substances.

- Seul le dosage du monoxyde de carbone n'est pas accessible à l'urine
- Absence de protéines ou de lipides en quantité importante (composition en eau supérieure à 98 %) : c'est donc le milieu de choix pour une recherche qualitative
- Le recueil des urines devrait s'effectuer :
 - le plus rapidement possible après l'admission en milieu hospitalier, avant l'administration de substances actives
 - sans antiseptique ni conservateur

Conditionnement

- Prélèvement sur flacon ou tube sec (en pratique, utilisation de flacon de type ECBU).
- Risque de falsification du prélèvement par les toxicomanes (surveillance par le personnel soignant) :
- dilution de l'échantillon d'urine par de l'eau.
- ajout de substance capable de perturber le dépistage (eau de javel, détergents...).

- En médecine légale c'est obligatoire que le prélèvement doit toujours se faire en double pour une éventuelle.
- Contre-expertise (conservation du deuxième flacon à -20 °C, le premier flacon à 4°C)
- Volume de l'échantillon : 50 ml.

Avantages

- L'urine ouvre une fenêtre rétrospective plus ou moins large sur le passé toxicologique de l'individu du fait du long délai de présence du toxique dans ce milieu :
 - 2 à 3 jours pour la plupart des médicaments et stupéfiants
 - 1 semaine ou plus pour les produits à demi-vie longue et de caractère lipophile

Ex : cannabis, certains raticides anticoagulants

- Pour les stupéfiants :
 - l'urine est le milieu de choix car les concentrations sanguines sont très faibles.

Ex: la cocaïne est très rapidement métabolisée

- les dosages urinaires sont utiles dans le suivi du sevrage de certaines toxicomanies (ex: cannabis) pour différencier la présence du toxique liée à l'élimination longue de la rechute
- Les kits immunochimiques ont été développés et validés pour l'urine

Inconvénients

- Sans grand intérêt sur le plan quantitatif Les concentrations mesurées dépendent de nombreux facteurs :
 - délai entre la dernière exposition et le prélèvement
 - diurèse
 - mise en place d'un traitement épurateur
 - les résultats quantitatifs doivent être mis en relation avec la créatininurie pour être interprétables [24].

1.4 Le liquide gastrique

Il est utile lorsque l'histoire clinique suggère une ingestion récente, car il peut contenir de grandes quantités de toxique non métabolisé

- C'est une analyse effectuée exceptionnellement.

Ex : dans les situations où le toxique a déjà été identifié dans un autre milieu et dont le clinicien voudrait connaître les paramètres d'épuration

- L'analyse du liquide gastrique peut être simplement visuelle ou olfactive :
 - un aspect bleuté est évocateur d'une intoxication par antigel
 - odeur évocatrice :
 - alcool
 - odeur d'ail pour l'arsenic et le phosphore jaune
 - odeur de poire pour le paraldéhyde et le chloral

- odeur d'amande amère pour les cyanures

Conditionnement

- Volume du prélèvement : 50ml

Avantages

- Important d'obtenir le premier échantillon de lavage : lors d'un surdosage massif, il est parfois possible de reconnaître des comprimés ou des morceaux non dégradés, qui vont faciliter l'identification des principes actifs
- Permet de juger de l'efficacité d'un lavage gastrique
- Peut objectiver la voie d'administration du toxique

Inconvénients

- Ne constitue pas un indice de gravité
- L'interprétation d'une concentration dans le liquide gastrique est très aléatoire [24].

1.5 Les cheveux

- Utilisation pour le dépistage des conduites toxicophilies
- Ce sont les marqueurs des expositions répétées ou chroniques
- Lors de la pousse, les cheveux incorporent dans leur matrice protéique les xéno biotiques présents dans le sang, la sueur et le sébum... Une fois fixés, ces composés restent stables

- Quantité nécessaire : mèche de 60 cheveux (taille d'un crayon) prélevée en vertex postérieur, au plus près de la peau et coupée aux ciseaux(ne pas arracher les cheveux).

Orientation racine-extrémité par une cordelette

- Avant l'analyse, ils sont décontaminés par du dichlorométhane, puis broyés et hydrolysés en présence de standards internes
- Les xéno biotiques sont ensuite extraits et analysés en CG/SM ou CL/SM

Conditionnement

- La conservation se fait dans un tube sec, à température ambiante
- Avantages
- Permettent d'établir le profil de consommation à long terme et son évolution : chaque segment de 1. 0 cm représente sensiblement la mémoire mensuelle de l'exposition :
 - pointe des cheveux : consommation la plus ancienne dans le temps
 - vers la racine des cheveux : consommation la plus récente
- Le prélèvement est non invasif
- La durée de conservation est pratiquement illimitée
- Jouent le rôle de calendrier historique de la consommation dans les situations où l'interrogatoire s'avère difficile voire impossible : cas de certains malades de psychiatrie
- Pas de risque de falsification
- Possibilité d'obtention d'un deuxième échantillon identique

Inconvénients

- Analyse coûteuse (GC/MS, LC/MS)
- Pas d'intérêt en cas d'intoxication aigüe
- Relève du domaine scientifique et médico-légal
- Ne peut se faire en urgence : dosage différé [24].

1.6. Sueur, Salive

- La sueur, la salive sont des milieux complémentaires d'investigation dans les procédures de dépistage des conduites toxicophiles
- Dans la salive, mise en évidence des produits parents :
 - Stupéfiants : opiacés, cocaïne, amphétamines, cannabis
 - psychotropes, cardiotropes, antibiotiques
 - alcooléthylique
- Dans la sueur : mise en évidence de stupéfiants

Avantages

- Absence de caractère invasif, faciles à prélever :
 - la sueur est collectée à l'aide d'un patch, sur plusieurs jours. Elle se fixe sur une membrane absorbante, se concentre lentement et les xénobiotiques présents seront retenus.
 - la salive peut être prélevée sous contrôle visuel du personnel médical, ce qui réduit considérablement les risques de substitution par le sujet dans le cas de recherches de stupéfiants.

- Le prélèvement de salive permet pour certains composés de connaître en temps réel de l'imprégnation du fait d'une corrélation étroite entre les concentrations sanguine et salivaire.

Inconvénients

- Incompatibles avec une utilisation en urgence
- Interprétation difficile : il n'existe pas encore de réactifs d'immunochimie commercialisés et validés pour ces milieux biologiques [24].

2. Prélèvements post mortem

Ces prélèvements sont effectués dans le cadre d'une réquisition émanant du procureur de la République ou d'une ordonnance de commission d'expert par juge d'instruction.

Sept prélèvements sont obligatoires : il est compris quelques matrices prélevés en ante mortem : le sang, les urines, les cheveux, le liquide gastrique. [24]

2.1 Le Sang

Le sang est la matrice biologique la plus précieuse pour le toxicologue. Les résultats quantitatifs peuvent permettre une interprétation quant au niveau d'imprégnation du sujet pour un xénobiotique donné (infra thérapeutique, thérapeutique, toxique, potentiellement létal) et donc d'apprécier son imputabilité sur la survenue du décès, s'il s'agit de sang périphérique [24].

2.2 Les urines

Généralement présentent en quantité importante. Les analyses urinaires permettent d'appréhender le moment de la dernière exposition à un xénobiotique par la mesure de ses métabolites. Si ceux-ci sont présents en grandes concentrations, le délai entre exposition et prélèvement peut être considéré comme long. Au contraire, des faibles concentrations de métabolites suggèrent un décès rapide après l'administration du xénobiotique [25].

2.3 Les cheveux

- les cheveux, seuls marqueurs des expositions répétées ou chroniques. L'analyse des cheveux permet donc d'établir le profil de consommation d'un xénobiotique à long terme, elle est complémentaire à celle du sang et de l'urine [25].

2.4 Les Viscères

Le tissu pulmonaire, qui, en cas de décès rapide par inhalation de substance volatile (gaz lacrymogène, gaz suffocant...), permet d'évaluer l'incidence de l'exposition sur la survenue du décès.

Le cœur, les cellules du myocarde fixent de façon sélective entre autres molécules, les digitaliques, les antipaludéens et certains antidépresseurs.

Le cerveau possède un intérêt pour les substances lipophiles à tropisme cérébelleux comme les opioïdes. Ainsi, dans la boîte crânienne, relativement imperméable, on peut retrouver des composés volatils ayant disparu des autres organes.

-Les reins sont particulièrement indiqués dans la recherche des intoxications chroniques aux métaux lourds (plomb, mercure, arsenic, thallium, sélénium) et cadmium qui nécessitent de travailler sur des organes fraîchement prélevés.

Le foie, siège principal du métabolisme de nombreux xénobiotiques, est hyper précieux en cas d'absence de sang et de bile. Aussi bien il y'a des métabolites qui disparus du courant sanguin, peuvent se retrouver dans le foie (par exemple, la 6-monoacétyl morphine, élément indispensable pour distinguer une prise d'héroïne d'une prise thérapeutique de morphine) [25].

2.5 .L'humeur vitrée

- l'humeur vitrée, permettant bien évidemment de confirmer une alcoolémie, puisque le rapport des concentrations en éthanol vitré/sang est sensiblement constant et égal à 0,80 [25].

2.6 .Le contenu gastrique

- le contenu gastrique, qui permet d'objectiver la voie d'introduction du toxique dans l'organisme. Des concentrations massives dans le contenu gastrique sont très en faveur d'une administration orale. Des concentrations importantes peuvent également s'observer lors d'une administration intra-nasale (héroïne, cocaïne ...) ou sublinguale (buprénorphine) [25].

2.7. La bile

La bile est un milieu biologique très intéressant, et également très difficile à utiliser, l'extraction des xénobiotiques tellement complexe du fait de la présence des sels biliaries.

Prélevée à la seringue en quantité toute limitée (5 à 10 ml), conditionnée dans un flacon en verre, la bile est intéressante en l'absence d'urine et compte tenu du cycle entéro-hépatique de nombreuses molécules et de leurs métabolites qui se trouvent à des concentrations très supérieures aux concentrations sanguines et persistent plus longtemps que dans le sang, (ceci est également valable pour toutes les molécules à très courte demi vie).

Ce milieu est particulièrement intéressant dans le cas d'une overdose à l'héroïne et qu'il n'y a pas d'urine, car l'on peut souvent y mettre en évidence la 6 monoacétylmorphine (6-MAM) qui signe la prise d'héroïne.

Tableau VIII: les prélèvements d'autopsie nécessaires à la bonne exécution des expertises toxicologiques [25].

Nombre	Milieu biologique	Code prélèvement	Contenant	Quantité ou volume
1 2 3	Sang	S S O*	2 flacons de verre 1 flacon sur fluorure** Seringue plastique type gaz du sang	30 ml sang cardiaque 5ml sang périphérique (fémoral) 2ml sang périphérique
4	Urine	S	Flacon de verre	30 à 50 ml
5	Bile	O (si pas d'urines)	1 flacon en verre	20 à 50 ml
6	Humeur vitrée	S	Tube verre monoject	Total des yeux
7	Contenu gastrique	S	Poudrier 50 ml	20 à 50 ml
8	Viscères : foie	S	Poudrier 50 ml	20 à 30 g
9	Rein	S	Poudrier 50 ml	20 à 30 g, $\frac{3}{4}$ du poudrier
10	Cerveau	S	Poudrier 50 ml	20 à 30 g, $\frac{3}{4}$ du poudrier
11	poumons	S	Poudrier 50 ml	20 à 30 g, $\frac{3}{4}$ du poudrier
12	cœur	S	Poudrier 50 ml	20 à 30 g, $\frac{3}{4}$ du poudrier
13	cheveux	S	Poudrier 50 ml	Une touffe comme 2 doigts sèche

S : systématique

O : occasionnel

** : seulement si suspicion d'intoxication par les produits volatils : gaz anesthésiants, tous les solvants, CO, CN, poopers*

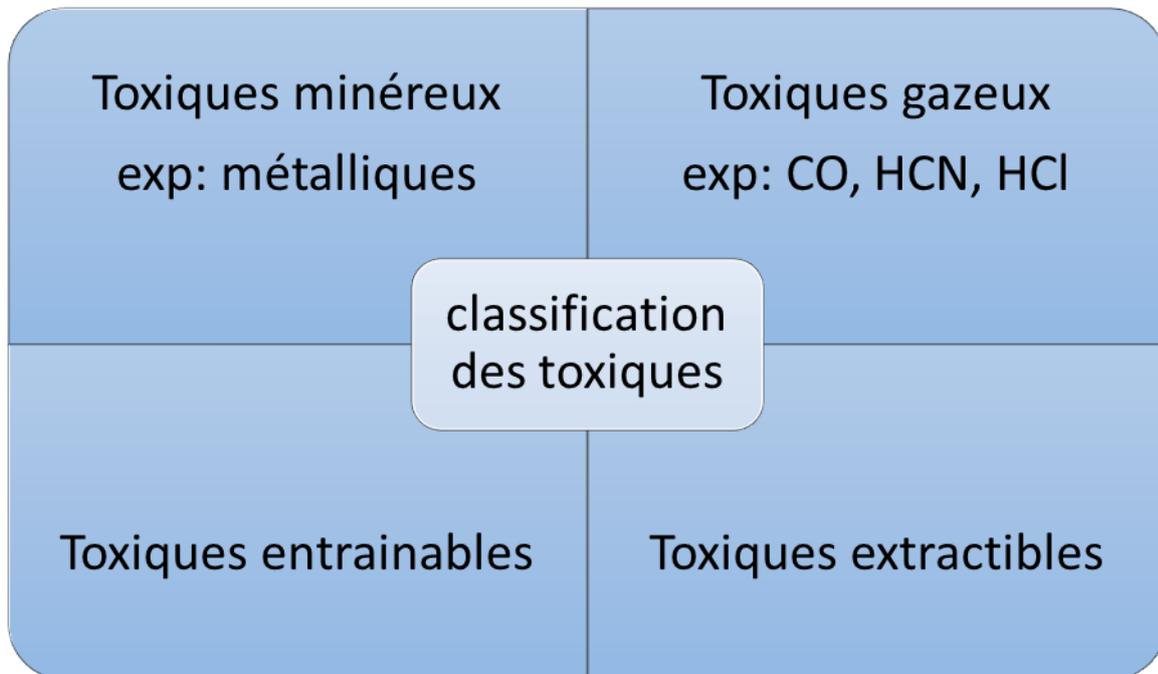
*** : rajouter du fluorure de sodium en poudre*



Préparation des échantillons

V. PREPARATION DES ECHANTILLONS

La préparation des échantillons c'est une étape essentielle et sensible pour avoir des résultats exacts, selon chaque classe de toxique on exerce une méthode d'extraction.



1. Extraction des toxiques volatiles

Les composés organiques volatils sont des composés organiques avec une pression de vapeur au-dessus de 0.1 mm Hg (13.3 Pa) à 25 ° C.

Il est possible d'isoler le toxique du substrat grâce au cycle de volatilisation suivie de condensation.

Le laboratoire de toxicologie peut être invité pour faire des analyses pour des solvants et d'autres composés volatils contenus dans les échantillons biologiques ou atmosphériques

1.1 Entraînement à la vapeur

L'entraînement à la vapeur est applicable aux composés peu ou pas solubles dans l'eau, dotés d'une tension de vapeur assez importante vers les 100 °C.

Entraînement à la vapeur ou l'hydro distillation ce sont des procédés d'extraction très anciens, découvertes par les arabes dans le IX^e siècle.

Le principe de cette technique est basé sur l'entraînement avec la vapeur d'eau les constituants volatils des produits bruts, la vapeur détruit la structure des cellules végétales, libère les molécules contenues et entraîne les plus volatiles en les séparant du substrat cellulosique. La vapeur, chargée de l'essence de la matière première distillée, se condense dans le serpentín de l'alambic avant d'être récupérée dans un essencier (vase de décantation pour les huiles essentielles) [26].

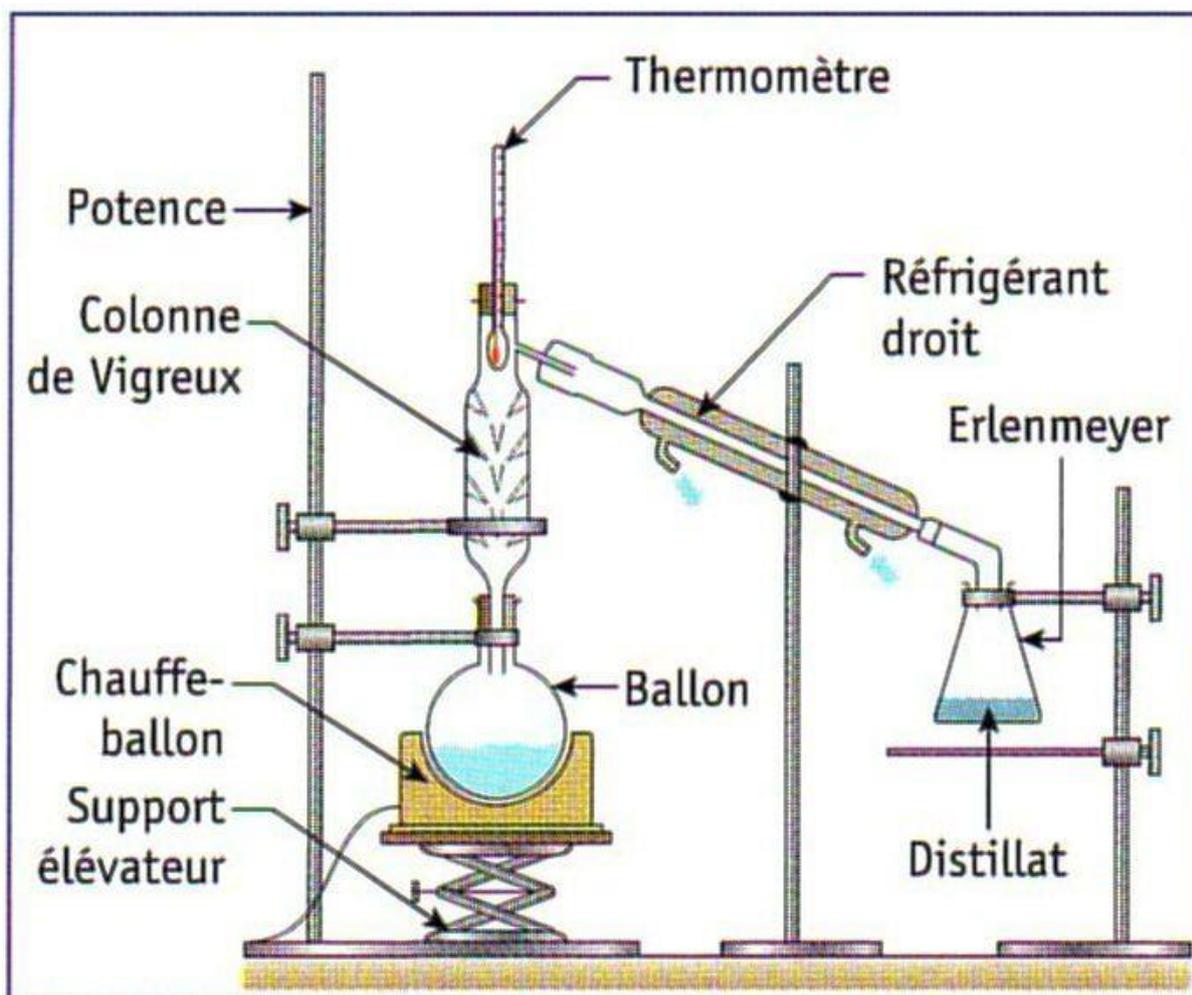


Figure 7 : Montage de l'hydro distillation [27].

On porte à ébullition un mélange de l'eau avec la matrice, sous l'effet de la chaleur, les cellules éclatent et libèrent alors les espèces chimiques non soluble dans l'eau qui sont entraînés avec la vapeur d'eau, et se condensent dans le réfrigérant refroidi par l'eau du robinet, puis sont récupérés dans l'erlenmeyer, afin de les analyser ensuite [28].

1.2 Isolement des toxiques gazeux à partir de l'atmosphère

Tubes inducteurs Dräger :

Principe : Les tubes de détection Dräger permettent des mesures précises, économiques, rapides et simples. Il y a autant de tubes, plus de 250 tubes pour tout type de substances et domaines de mesure.

Un volume bien défini doit être pomper à l'intérieur dans le tube préleveur au moyen de la pompe d'échantonnage , le contact de la substances à tester avec le réactif contenu dans le tube inducteur change de couleur .

Le niveau de concentration de la substance peut être lu directement au moyen de l'échelle, et il est indiqué par la longueur de la bande couleur affichée. [29]

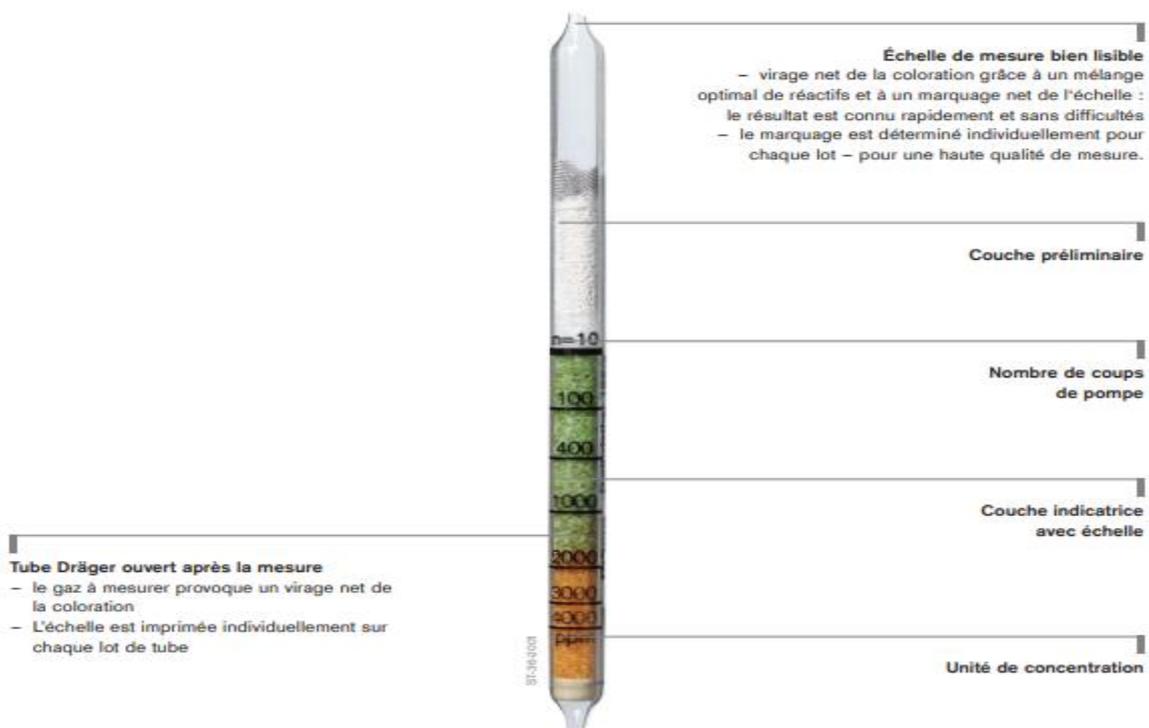


Figure 8 : tube inducteur Dräger [29].

❖ **Avantages :**

- ❑ *Rapides ,fiable
- ❑ *Utilisation facile
- ❑ *Large champs d'application

❖ **Inconvénient :**

- ❑ Cout cher
- ❑ Plusieurs facteurs peuvent perturber les résultats

2. Extraction des toxiques extractibles

Les techniques d'extraction sont des méthodes de séparation dans le but est de séparer une substance d'une matrice quel que soit le sang, les urines, la bile, le liquide gastrique etc).

Elles comprennent l'extraction en phase solide, l'extraction liquide-liquide. La distribution d'un soluté entre deux phases est une condition d'équilibre décrite par la théorie des partitions. Ceci est basé sur exactement comment l'analyte se déplace de l'eau vers la phase organique.

2.1 Extraction liquide-liquide :

L'extraction par solvant, ou extraction liquide-liquide est une technique de séparation isotherme en milieu liquide hétérogène [30].

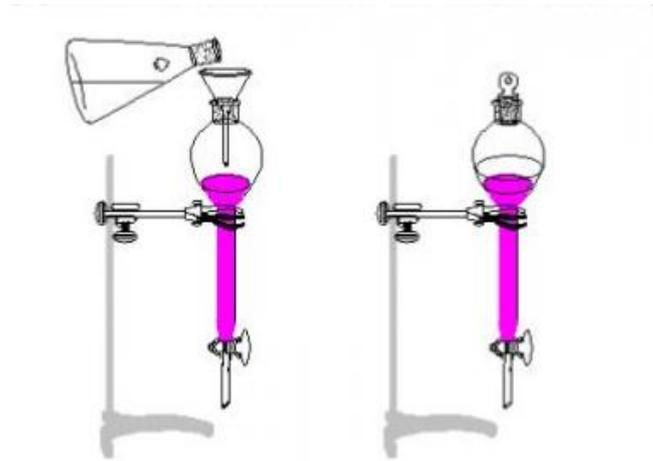
C'est une méthode d'extraction basée sur la différence de solubilité d'une substance dans deux solvants non miscibles, on note le solvant qui contient Le soluté qui est la matrice dans notre cas, et le solvant d'extraction. Les deux liquides constituent généralement une émulsion [31].

On se dispose de :

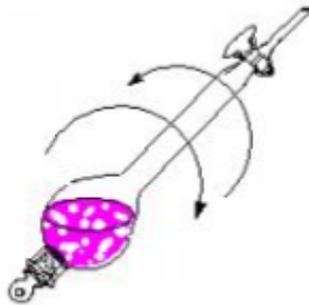
A : la matrice la solution qui contient la substance à extraire

B : le solvant d'extraction

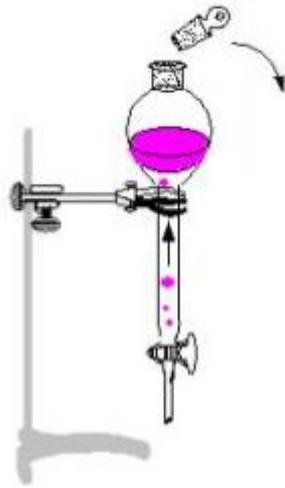
La substance préférentiellement plus soluble dans le solvant d'extraction, que la matrice, c'est une étape importante de bien choisir le solvant d'extraction [32].



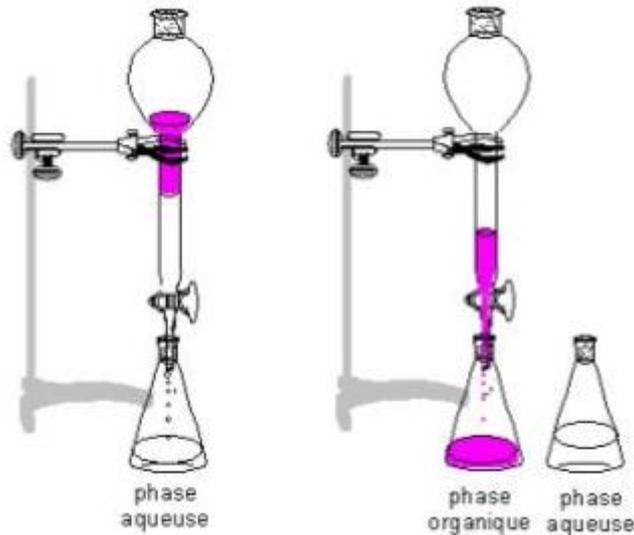
1 : On ajoute le solvant d'extraction [32].



2 : On agite rigoureusement l'ampoule retourné, on l'ouvrant de temps à temps pour éviter la surpression due au solvant organique volatile [32].



3 : On laisse décanter ampoule débouchée [32].



4 : Finalement on récupère les deux phases [32].

L'extraction liquide-liquide, est réalisée en faisant un contact de la solution du soluté avec un volume de solvant non miscible, avec agitation vigoureuse et décantation des deux phases liquides en ampoule à décanter ou par centrifugeuse pour séparer les deux phases liquides non miscibles.

On aura comme résultat deux phases non miscible l'une est le solvant d'extraction avec la substance s'appelle l'extrait ou la couche extraite.

Et la solution du départ dénuée de la substance recherché qui s'appelle raffinat ou la couche raffinée.

Afin d'extraire mieux et le maximum de composants, on peut procéder à des extractions répétées, en principe on répète l'extraction sur la solution du départ.

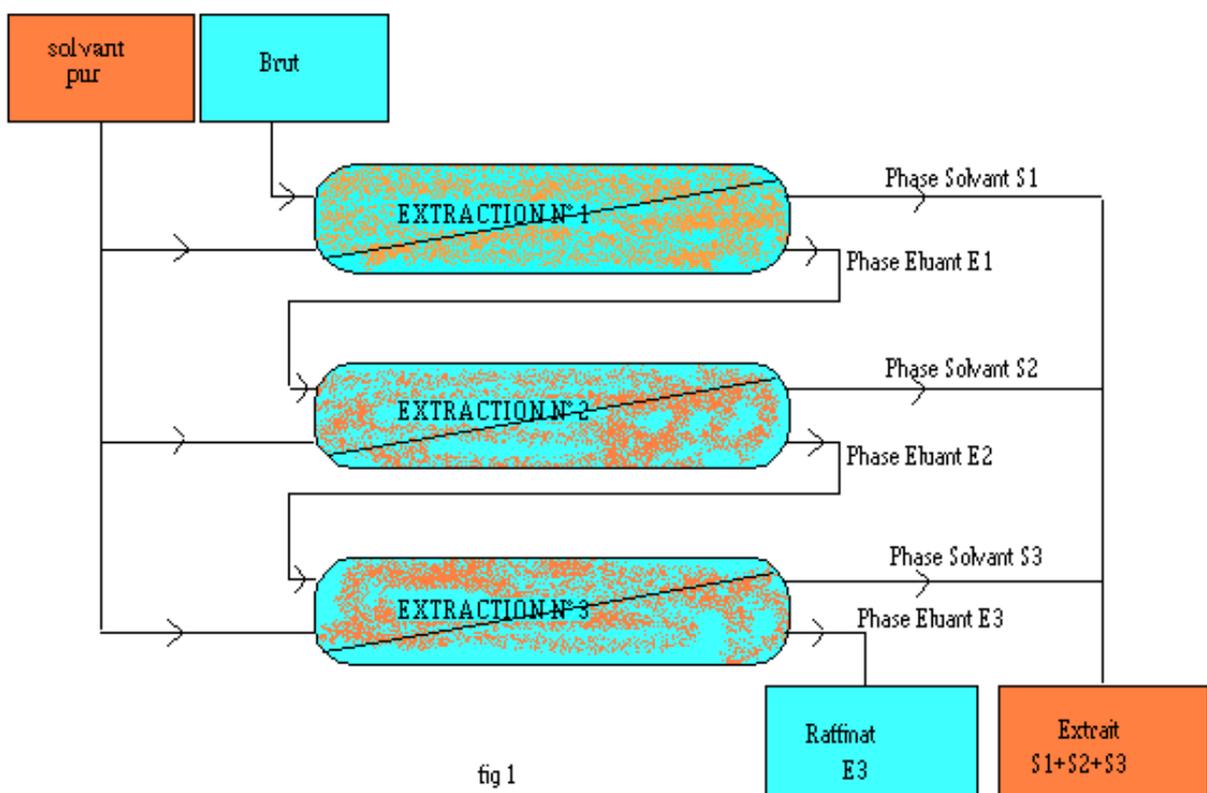


Figure 9 : Extraction à plusieurs étages.

2.2 Extraction Liquide_ solide

2.2.1 Méthodes discontinues :

2.2.1.1 Décoction

La décoction est l'extraction d'un principe actif contenue dans une plante aromatique ou médicinale ayant une valeur thérapeutique (qui soigne, qui soulage). Cette substance est présente essentiellement dans la partie la plus dure de la plante (racine, écorce, bois, graine) [33].

Consiste à faire bouillir la matrice avec un solvant bien choisi, pour en extraire la substance recherchée, on faire cuire lentement, puis on filtre l'ensemble pour récupérer enfin les principes actifs.

2.2.1.2 Infusion

L'infusion est une méthode d'extraction des principes actifs ou des arômes d'un végétal par dissolution dans un liquide initialement bouillant que l'on laisse refroidir [34].

Cette fois ci il suffit de faire bouillir l'eau, et en verser sur la matrice et laisser le mélange infuser 5 à 10 min puis filtrer

2.2.1.3 Macération

La macération consiste à laisser tremper une matrice dans l'eau froide (quelquefois salée) pendant plusieurs heures, jours, ou alors semaines, puis on procède à la filtration [35].

Cette méthode est utile pour les composants sensibles ou fragiles dont il y'a risque d'altération.

2.2.1.4 L'extraction par solvant

L'extraction par solvant, c'est un procédé qui permet d'extraire des composés qui ne peuvent pas l'être avec de l'eau.

Elle consiste à faire passer, par solubilisation, la substance à extraire dans un solvant. Généralement il s'agira d'un solvant organique : éthanol, cyclohexane, éther de pétrole, toluène, etc. Dans l'extraction par solvant, les plantes sont mélangées à un solvant. Les composés à extraire étant emprisonnés dans la cellule par la membrane cellulaire, il faudra donc des solvants capables de la traverser. En plus, il arrive que des traces de solvant soient présentes dans les molécules à extraire ou bien dans la matière végétale après traitement [36].

2.2.2 Méthodes continues

2.2.2.1 Extracteur de SOXHELT :

C'est un ingénieux dispositif en verre, permettant l'extraction d'une substance principalement dans un échantillon solide [37].

Le dispositif **Soxhlet** se constitue d'un ballon monocol, d'un réfrigérant et d'un extracteur. Ce dernier possède un système de tube permettant la vidange du réservoir dont le volume varie d'un modèle à l'autre. Pour compléter le système on doit placer la cartouche en cellulose dans le réservoir.

Placer le produit dans la cartouche de cellulose, puis dans le réservoir de Soxhlet.

Remplir le ballon avec la quantité satisfaisante de solvant et surmonter l'extracteur d'un réfrigérant. Porter le solvant à ébullition à l'aide d'une chauffe ballon. Il passe par la tubulure **1** et se condense par le réfrigérant. Il tombe alors dans le réservoir contenant la cartouche et solubilise la substance à extraire. Le réservoir se remplit. Dès que le niveau de solvant est à hauteur du coude **2**, le réservoir se vidange systématiquement. Le solvant et la substance à extraire sont apportés dans le ballon. Pour réaliser une extraction correcte d'une substance [37], le nombre de cycles ou le temps définit la longueur du processus d'extraction [38].

Comme avantage ça nous permet d'utiliser des petites quantités de solvants. D'autre part, le solvant qui se condense est toujours pur. La solubilisation de la substance est privilégiée grâce à des meilleurs coefficients de partage.

Pourtant il possède quelques inconvénients car les extractions sont longues ainsi que c'est impossible de travailler à froid, ce qui peut être intolérable avec des substances sensibles à la *chaleur* [37].

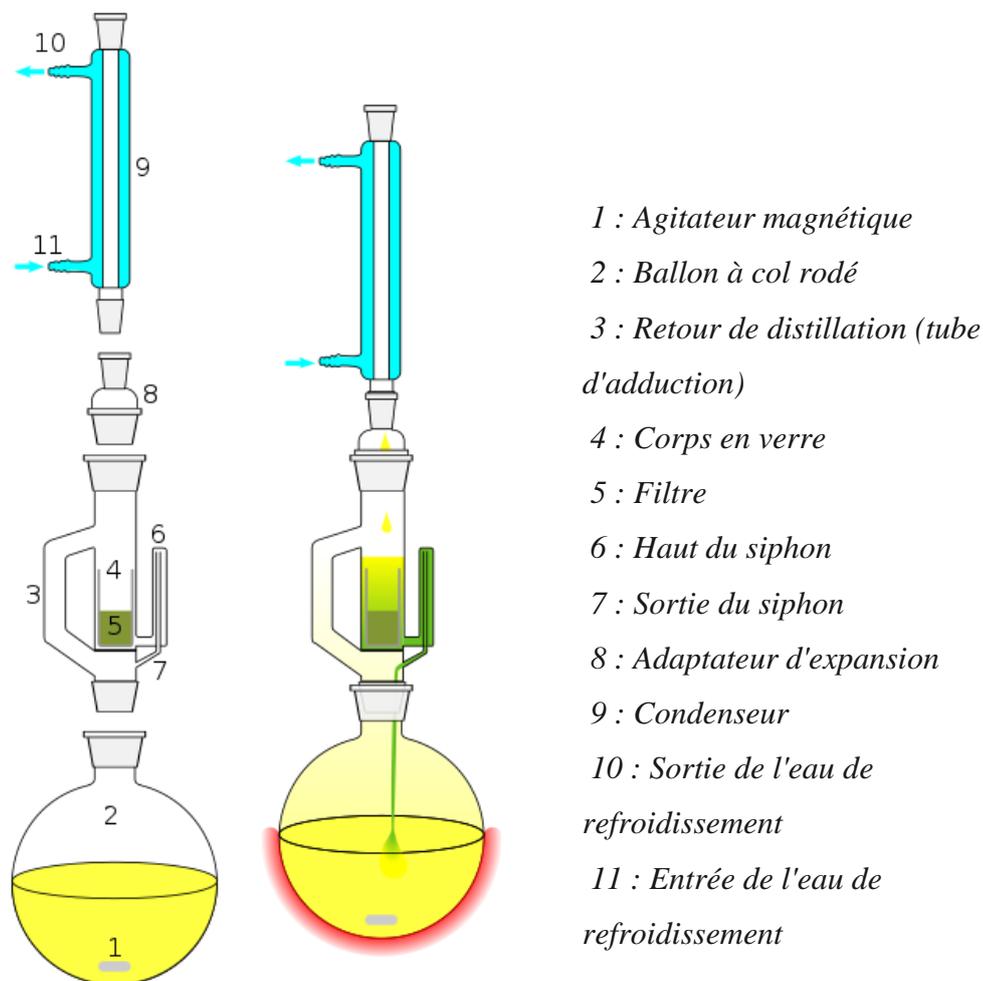


Figure 10 : schéma de l'extracteur soxhlet.

- 1 : placer la matrice dans la cartouche de cellulose
- 2 : remplir le ballon avec le solvant
- 3 : porter le solvant à ébullition.
- 4 : récupérer l'extrat

2.2.2.2 L'extracteur de Kumagawa

Très semblable de l'extracteur de Soxhlet, Il est composé d'un ballon à fond rond à col évasé. L'échantillon à traiter est placé dans une cartouche d'extraction en pure cellulose de coton sans graisse, elle-même insérée dans une nacelle de verre suspendue à l'intérieur du col et munie d'un système de trop plein.

Le solvant contenu dans le ballon est porté à ébullition par un chauffe ballon thermostaté.

Les vapeurs de solvant émises sont condensées dans un réfrigérant [39].

Le Kumagawa possède comme avantage le pouvoir d'être utilisé à des températures bien supérieures et d'être moins encombrant grâce à la cartouche incorporée dans le porte-ballon.

2.3 Extraction en phase solide SPE

C'est une méthode de préparation, purification et concentration des molécules d'intérêts contenus dans un échantillon.

Les composants en solution ou suspension dans une phase liquide seront séparés du mélange par adsorption sélective envers d'une phase solide stationnaire en fonction de leur propriétés physico-chimiques [40].

2.3.1 Principe

Cette méthode est basée sur l'affinité des solutés dissous ou en suspension dans un liquide qu'est la phase mobile, par rapport à la phase stationnaire qui est un solide poreux à travers lequel l'échantillon est passé.

Deux possibilités sont requises soit on procède à une rétention des impuretés par la phase stationnaire, ce qui purifie l'analyte d'intérêt, soit on capte l'analyte et on se débarrasse des impuretés par la phase mobile, dans ce cas-là une étape supplémentaire est nécessaire, c'est l'éluion de l'analyte résorbé par un solvant approprié [41].

2.3.2 Technique d'extraction

Il existe quatre étapes essentielles :

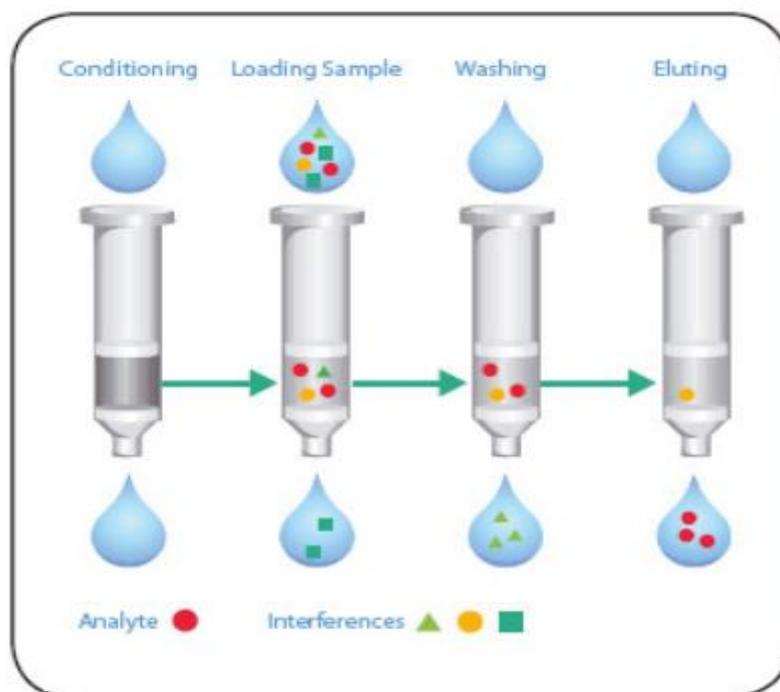


Figure 11 : Les différentes étapes de l'extraction en phase solide [41].

1- Conditionnement de la phase stationnaire

2-Dépôt de l'échantillon

3-Le lavage

4-L'éluion

La première étape consiste à mouiller la phase stationnaire par un solvant organique (généralement le méthanol), et activer les sites de rétention, c'est le siège des interactions moléculaires. Puis par un solvant dont les caractéristiques ioniques et le pH sont les plus proches possibles du solvant de l'échantillon (le plus souvent c'est l'eau) [40].

La deuxième étape c'est le dépôt de l'échantillon, dont le but est de provoquer une rétention des analytes sur la phase stationnaire, tandis que le maximum d'interférences est éliminé par une simple non rétention [40].

La troisième étape c'est le lavage elle n'est pas systématique, elle a le but d'éliminer les interférents faiblement retenus. Il faut choisir des solvants de faibles forces éluantes comme exemple la solution méthanol/eau pour n'éluer que les interférents. Cette étape pour les phases dites mixtes peut être doublée en opérant des mécanismes alternatives, par exemple on fait le premier lavage par une solution de force éluante faible pour nos analytes, puis un deuxième lavage en modifiant le pH de la phase mobile. Ces lavages multiples améliorent la pureté de l'extrait ce qui va améliorer de plus la qualité de l'analyse. Il est recommandé à la fin de cette étape de faire sécher le support pour évaporer les traces de solvant de lavage, on obtient un rendement d'extraction plus grand.

La dernière étape est celle de l'élution. Il est souhaitable d'utiliser le solvant de la plus faible force éluante possible capable d'entraîner la totalité des molécules d'intérêts évitant ainsi d'éluer des interférents fortement retenus. Le choix du solvant est aussi basé par sa facilité d'évaporation ou sa compatibilité avec la technique analytique suivante. Il doit néanmoins être le plus efficace possible, son volume doit être faible de manière à obtenir un facteur de pré concentration très important. La vitesse d'écoulement du solvant doit être lente pour favoriser l'élution [40].

3. Préparation pour analyse des métaux

3.1 La dilution :

Une simple dilution peut se montrer suffisante pour l'analyse des métaux dans les matrices biologiques liquides. Pour le plasma et le sérum, une dilution au 1/5e ou au 1/10e en milieu neutre ou acide (acide nitrique ou sulfurique dilué est nécessaire pour diminuer la viscosité. Diluer une solution, c'est diminuer sa concentration. Pour se faire, on rajoute une quantité de solvant (souvent de l'eau distillée) à un volume précis de la solution initiale [42].

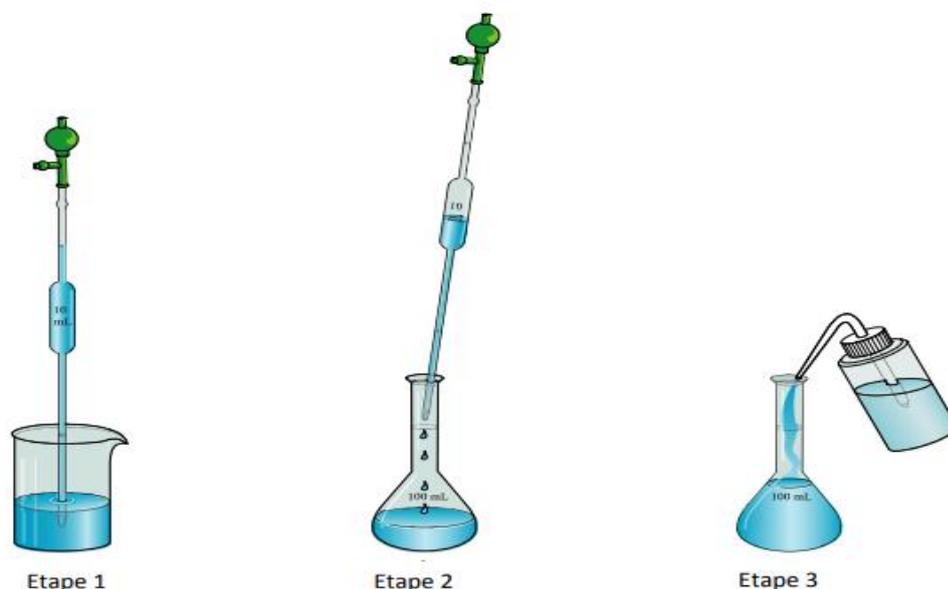


Figure 12 : Les étapes de la dilution [43].

- **Étape 1** : placer la solution mère dans un bécher. A l'aide d'une pipette jaugée de V pipette mL, munie d'un dispositif d'aspiration, prélever cette solution mère
- **Étape 2** : Verser le prélèvement dans une fiole jaugée de V fiole mL
- **Étape 3** : Compléter avec de l'eau distillée
- **Étape 4** : boucher la fiole à l'aide d'un bouchon et agiter pour homogénéiser l'ensemble [44].

3.2 La minéralisation

La minéralisation de la matière organique est le fruit d'une série de réactions chimiques qui aboutit à la transformation des composés organiques complexes en composés minéraux simples [45].

La minéralisation paraît s'imposer dans de nombreux cas, surtout pour des échantillons solides. La plupart des méthodes permettant l'analyse des éléments traces dans des matrices biologiques utilisent la SAA ou l'ICP qui nécessitent des étapes de digestion/dissolution. Elle permet de limiter ou de faire disparaître les interférences liées aux matières organiques et de réaliser en outre une concentration qui améliore la sensibilité des mesures [46].

Conditions d'une bonne minéralisation [47] :

- Pas de contamination
- Pas de pertes par adsorption
- Pas de pertes par volatilisation
- Simplicité de mise en œuvre
- Rapidité
- Minéralisation complète

Elle peut se faire par voie sèche ou par voie humide.

3.2.1 – Digestion par voie sèche :

Méthode qui s'applique pour doser les éléments suivants : calcium, magnésium, sodium, fer, cuivre, zinc.

Elle reste peu utilisée. Par cette voie, les échantillons solides sont mélangés à différents types de réactifs et chauffés à hautes températures (supérieures à 600 °C). L'acide nitrique ou un autre acide est ensuite ajouté pour permettre l'analyse de l'échantillon.

Cette méthode présente les inconvénients de conserver une quantité de particules non dissoutes qui augmente le bruit de fond, et d'entraîner la perte des métaux volatils [45].

❖ **Obtention des cendres**

Peser avec précision, 1g dans le cas des produits riches en matières minérales, dans une capsule de platine ou de silice préalablement nettoyée et tarée,

Brûler doucement l'échantillon sur la flamme d'un bec Bunsen, sous une hotte aspirante. Mettre la capsule dans un four à moufle à $600\text{ °C} \pm 25\text{ °C}$ pendant 12 heures. Reprendre le résidu avec quelques ml d'eau déminéralisée.

Évaporer l'eau sur un bain d'eau à 100 °C. Replacer la capsule contenant l'échantillon dans le four. La minéralisation est terminée quand les cendres sont blanches [45].

❖ **Mise en solution des cendres**

On solubilise les cendres par 2 ml d'acide chlorhydrique concentré, puis on amène le volume à 100 ml avec de l'eau déminéralisée

Dilutions complémentaires : Rediluer la solution de cendres dans l'acide chlorhydrique, de façon à être compatible avec la sensibilité de l'appareil ; voir séparément la méthode propre à chaque cation. Pour le dosage du calcium et du magnésium, ajouter du chlorure de lanthane au cours de cette dilution. Réaliser un blanc [45].

3.2.2– Digestion par voie humide

Digestion par voie humide par solubilisation par l'acide sulfurique (H_2SO_4) ou par les mélanges d'acides nitroperchloriques (HNO_3 , $HClO_4$) en présence d'agents oxydants comme l'eau oxygénée.

La minéralisation par voie humide impose l'utilisation de réactifs de qualité ultra pure (acides minéraux concentrés) afin d'observer des valeurs de blancs aussi faibles que possible.

Méthode applicable pour doser les éléments suivants : arsenic, cadmium, plomb [45].

❖ Cas des produits aqueux

Peser avec précision, dans un tube de polypropylène de 50 ml, 3 grammes de produit pulvérisé, ajouter 5 ml d'acide nitrique à 65 %.

Fermer avec le bouchon à vis.

Laisser 12 heures à température ambiante puis, après avoir dévissé le bouchon, placer le tube dans un bain d'eau à 90 °C pendant 3 heures, sous une hotte aspirante.

Laisser refroidir.

Compléter le volume à 20 ml avec de l'eau déminéralisée.

Agiter.

Filtrer sur filtre sans cendres (si nécessaire).

Réaliser le blanc dans les mêmes conditions.

❖ Cas des produits secs

La minéralisation est semblable à celle des produits aqueux, mais en utilisant une prise d'essai de 0,5 gramme de produit.

Ces deux méthodes, la seconde étant prédominante, présentent les inconvénients d'être consommatrices de temps.

Ainsi, une nouvelle alternative est actuellement largement utilisée :

3.2.3 – Minéralisation assistée par micro-ondes (calcination) :

Dès l'arrivée de cette méthode, de nombreuses applications ont été décrites dans la littérature à partir du début des années 1970.

On utilise des réacteurs pressurisables, perméables aux micro-ondes, et les échantillons sont chauffés dans une solution acide appropriée à des températures allant de 200 à 260°C, ce qui va permettre de détruire et dissoudre l'échantillon complètement.

L'avantage du chauffage par un champ de micro-onde réside dans la rapidité de la montée en température de l'échantillon et de la solution acide. Comme le chauffage dépend du type d'échantillon et de son poids, il est exceptionnel que deux échantillons se comportent de la même façon. Par conséquent, l'évolution irrégulière de la température et de la pression à l'intérieur des différents réacteurs de minéralisation, associée aux éventuelles réactions spontanées, sont toujours des facteurs de risques sévères pour la sécurité. En principe, la température est le seul paramètre influencé activement par les micro-ondes. La pression est une conséquence de la réaction à températures élevées et le paramètre critique de la sécurité [48].

3.3 La chélation-extraction

Une étape d'extraction est obligatoire dans quelque cas, comme par exemple pour le dosage en SAA-ET de l'arsenic total « non alimentaire » ou d'intérêt toxicologique dans les urines.

Ce qui permet d'isoler les formes organiques et inorganiques d'intérêt toxicologique. C'est une méthode simple et rapide qui consiste en milieu acide en présence d'iodure de potassium à réduire les espèces arséniées sous formes correspondantes de complexes d'iodures d'arsines.

Seul l'arsenic minéral et ses métabolites méthylés sont extraits, et l'arsenic alimentaire principalement sous les formes d'arsénobétaine ou d'arsénocholine est éliminé [45].



VI. LES METHODES D'ANALYSE EN TOXICOLOGIE

La stratégie analytique à suivre sera le fruit d'une collaboration clinico-biologique étroite, en se basant sur, l'approche clinique (anamnèse, signes cliniques), l'approche biologique (gazométrie, osmolalité, ionogramme, ...) et la connaissance des limites et des intérêts des différentes méthodes disponibles localement. Les méthodes spectrophotométriques et immunologiques sont des méthodes de dépistage au champ d'application limité et dont l'intérêt est d'apporter rapidement une orientation sur l'origine de l'intoxication (pesticides, médicaments, substances illicites, ...). Les méthodes séparatives associées à des outils de détection (spectres UV, spectres de masse) sont le complément indispensable à l'identification des molécules responsables de l'intoxication. En dernière étape, l'analyse quantitative du produit toxique identifié peut faire appel à une méthode immunologique (paracétamol, digoxine, ...) ou chromatographique (méprobamate, colchicine, ...) [49].

1. Méthodes chimiques :

1.1. Colorimétriques

Les tests colorimétriques se représentent le premier outil d'identification toxicologique utilisé par les toxicologues et les analystes afin d'identifier et de caractériser des médicaments et des poisons.

On réalise les tests colorimétriques surtout sur des produits pharmaceutiques et des résidus et, sur des fluides biologiques comme le contenu gastrique, et les urines. Ils sont pratiqués pour mettre en évidence une substance inconnue et la placer dans une classe spécifique de composés ou éliminer les catégories ou classes de composés qui ne correspondent pas à la substance en question [24].

1.1.1 Principe

Le principe d'un dosage colorimétrique repose sur un changement de couleur lors d'un dosage, ce changement ayant généralement lieu lors des équivalences [50].

- Ces réactions peuvent mettre en évidence :
 - Un composé, spécifiquement (picrate de sodium pour les cyanures)
 - Une classe pharmacologique (réactif de Forrest pour les phénothiazines)
 - Un ensemble de produits (réactif de Dragendorff pour les alcaloïdes)

1.1.2 Appareillage

- Nécessité de :
 - Tubes à essai
 - Réactifs
 - Echantillon (urines et éventuellement au liquide gastrique)

1.1.3 Avantages

- Pré-étape d'orientation
- Constitue la première recherche qualitative
- Techniques simples, peu coûteuses, rapides

1.1.4 Inconvénients

- Manque de spécificité
- Sensibilité variable

- Risque d'interférences (notamment phénothiazines et tricycliques)
- Nécessité par fois d'extraction
- La plupart des réactions sont considérées être semi-quantitatives, il suffit de préparer une gamme d'étalonnage et de mesurer en spectroscopie visible (colorimètre) ou UV l'absorbance du produit (on mesurera la somme des concentrations de la substance-mère et de ses métabolites)

1.1.5 Applications : méthodes anciennes, mais parfois encore d'actualité

Tableau IX: les réactions colorimétriques les plus utilisées en toxicologie hospitalière.

	Echantillon	réactif	coloration	détection
Dérivés poly chlorés (acide trichloracétique)	Urine	Fujiwara	Rose	5 mg/l
Méprobamate	Sang, Urine	Ludwing-Hoffman	Rouge	5- 10 mg/l
Paraquat, Diquat	Urine	Dithionite	Bleu-vert	2-5mg/l
phénothiazines	Urine	Forrest	Rose fugace	2 mg/l
Salicylés	Sang, urine	Trinder	Violette	50 mg/l

•Selon les moyens du laboratoire, de plus en plus remplacées par des méthodes plus sensibles et plus spécifiques [24].

1.2. Méthodes volumétriques :

1.2.1 Principe :

Cette méthode d'analyse est fondée sur, la mesure exacte du volume de la solution du réactif, de la concentration et la préparation d'une solution titrée. L'analyse volumétrique possède un grand intérêt pratique, elle a un grand avantage en ce qui concerne la rapidité de l'exécution. La concentration d'une solution aqueuse contenant un acide ou une base est caractérisée par le dosage volumétrique. On réalise une réaction acido-basique, qu'elle doit être en générale rapide et la plus totale possible. A l'équilibre, les réactifs acides et basiques sont mélangés dans des proportions stœchiométriques déterminées par l'équation de la réaction utilisée [51].

Si C_a et C_b sont respectivement les concentrations des solutions d'acide et de base réagissant et V_a et V_b les volumes de monoacide et de base mélangés à l'équivalence, on a la relation : $C_a V_a = C_b V_b$

Cette relation traduit l'équivalence acido-basique. Pour déterminer expérimentalement la fin du dosage, nous utilisons :

Soit des graphes $\text{pH} = f(\text{Réactifs})$ à l'aide d'un pH-mètre.

Soit le virage d'indicateurs colorés exactement et précisément choisis pour que la variation du pH à l'équivalence soit brusque.

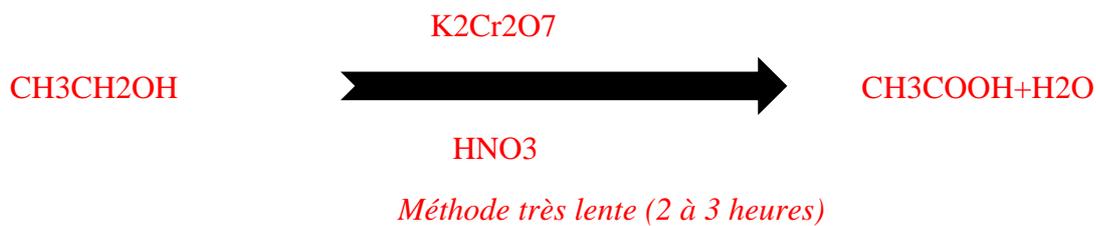
Méthode utile dans le dosage de l'alcool après extraction par distillation, cette technique s'appelle **méthode de Cordobard** :

Distillation

Séparation de l'alcool contenu dans le sang par distillation en présence de l'acide picrique.

Dosage

L'alcool est oxydé à froid par le mélange nitrochromique en excès selon le schéma suivant :



L'éthanol contenu dans le sang est séparé par distillation, en présence d'acide picrique qui a une action défécatrice et antimousse.

Le distillat est recueilli dans une fiole jaugée contenant de l'eau distillée et placée dans un bain réfrigérant. La solution aqueuse d'éthanol est alors mise en présence d'une solution nitrochromique (mélange d'acide nitrique et de dichromate de potassium) à froid et en excès. L'excès d'ions dichromate est dosé en retour par iodométrie. Un essai à blanc est pratiqué en parallèle par remplacement de la solution aqueuse obtenue à partir du distillat par de l'eau distillée [52].

2. Méthodes immunologiques

2.1 Introduction

2.1.1 Techniques immunochimiques

Ces techniques reconnues divers applications en biologie clinique, et bien évidemment dans les laboratoires de toxicologie clinique, où elles possèdent une réalisation rapide du suivi thérapeutique et la mise en évidence des médicaments responsables des intoxications aiguës [53].

Les différentes méthodes immunochimiques : [24]

- Méthodes en phase hétérogène (séparation des complexes Antigènes-Anticorps (Ag-AC) avant la détection du signal) :
 - RIA Radio-immunoassay : méthodes radio-isotopiques, ELISA (enzyme linked immunosorbent assay), sont des techniques difficilement automatisables, et qui ne sont pas utilisées en analyse toxicologique de routine
- Méthodes en phase homogène (pas de séparation des complexes Ag-AC) :
 - EMIT (enzyme multiple immunoassay technique)
 - FPIA (fluorescence polarization immunoassay)
 - KIMS (Kinetic Interaction of Microparticles in Solution)

2.1.2 Principe de l'immunochimie

La méthode basée sur l'ajout d'un anticorps (Ac) dédié à la reconnaissance de la substance à identifier et à doser qui joue le rôle de l'antigène (Ag), on obtient comme résultat la formation d'un complexe Ag-Ac.

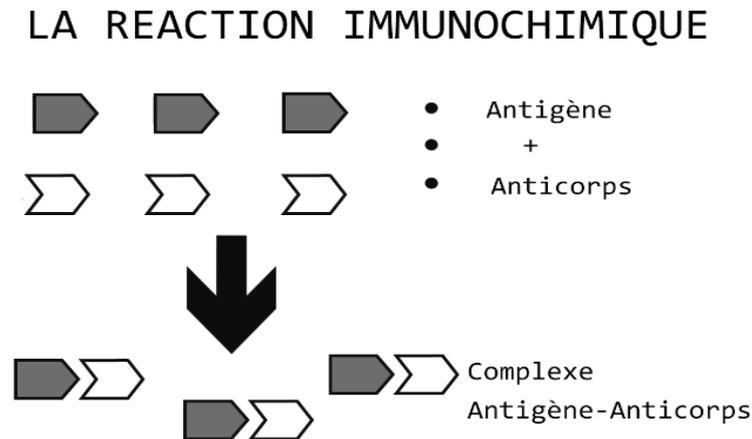


Figure 13 : principe générale de l'immunochimie.

- Toutes les techniques immunochimiques utilisent :
 - un Ac spécifique de la molécule à doser
 - une forme marquée de la molécule à doser

2.1.3 Mécanisme

On crée une compétition pour la fixation sur l'anticorps entre la molécule à doser présente dans l'échantillon (Ag), et une autre molécule marquée par un radio-isotope, une enzyme ou un fluorophore, qui lui confère une affinité légèrement inférieure à celle de l'antigène non marqué pour l'Ac, la proportion de molécules marquées fixées sur l'Ac est inversement proportionnelle au nombre de molécules non marquées initialement présentes dans l'échantillon à doser.

2.1.4 Applications

Les méthodes vont du test unitaire à l'utilisation d'automates à haut débit.

Il est bien établi que l'immunoanalyse peut servir au dépistage de la présence d'un stupéfiant, mais ne peut pas être utilisée comme méthode de confirmation. Cependant des tests peuvent très bien être utilisés pour doser directement des molécules bien définies. La sensibilité du test doit être en adéquation avec la concentration attendue dans la matrice étudiée (trace, zone thérapeutique, intoxication aiguë) et ici entrent en jeu les réactions croisées avec d'autres molécules de la même famille. La spécificité doit être telle que l'on n'obtienne pas ou peu de résultats faux positifs.

La place actuelle des tests unitaires de dépistages des stupéfiants dans la salive est évoquée pour une utilisation chez les conducteurs au bord de la route et en santé au travail. L'utilisation en routine des tests immunochimiques dans les matrices alternatives comme le cheveu.

À travers différents exemples est évoqué le dépistage rapide des substitutifs de l'héroïne et autres opioïdes dans le cadre d'un suivi clinique ou dans le cadre médico-légal.

Le dosage de la cotinine dans divers milieux biologiques pour des applications aussi différentes que sont la pédiatrie et la santé au travail.

2.2 Immunodosage en phase hétérogène : RIA et ELISA

2.2.1 Principe

Une étape de séparation des 2 formes est nécessaire avant toute mesure : ce sont des immunodosages en phase hétérogène car, Il n'y a pas de différence entre, les signaux produits par les formes libres (Ag marqué seul), et les signaux produits par les formes liées (Ac lié à l'Ag marqué) [24].

Les radio-immunodosages (RIA) sont spécialement réservés aux laboratoires qui désosent et manipulent les sources radioactives.

Ils sont adaptés aux dosages de :

- Acide lysergique (LSD)
- Buprénorphine
- Insuline
- Hétérosides cardiotoniques.

Les isotopes utilisés sont le tritium, le carbone14, l'iode125

2.2.2 Mécanisme

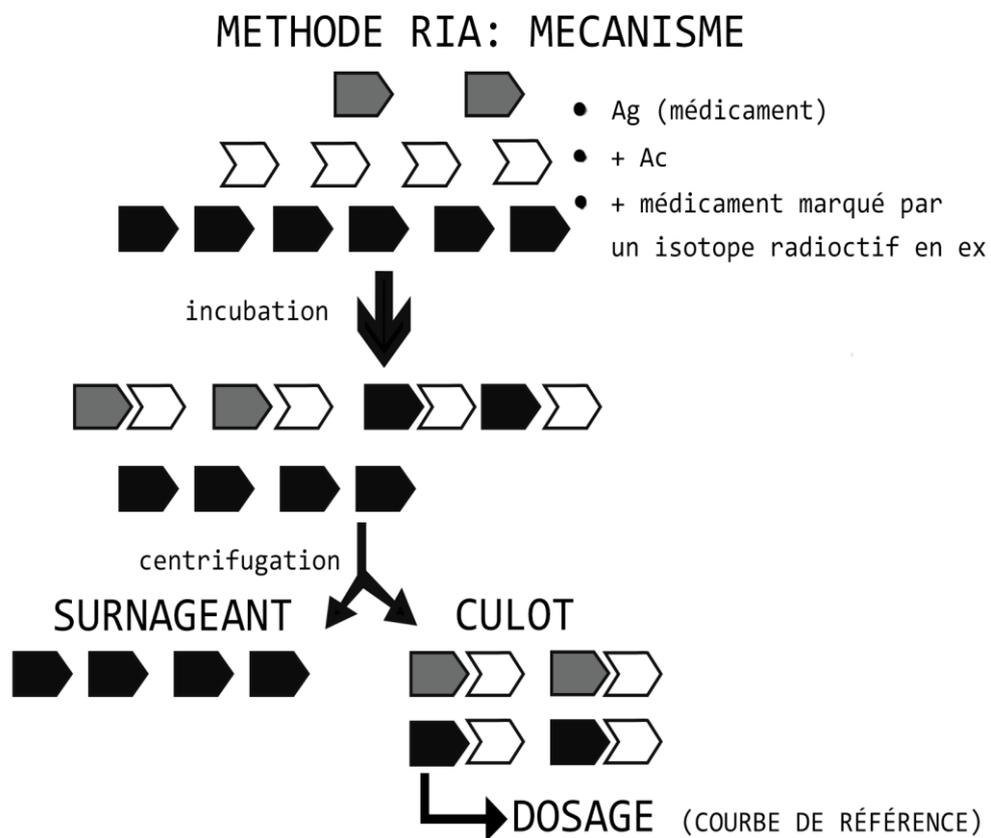


Figure 14 : schéma détaillé du mécanisme des techniques immunochimiques RIA et ELISA.

La technique ELISA est fondée sur une réaction non isotopique en phase hétérogène, elle utilise des Ag marqués par une enzyme (méthode peu utilisée).

La différence essentielle est la nature du signal mesuré c'est la radioactivité dans un RIA et activité enzymatique dans un ELISA. Dans un RIA les anticorps secondaires (ou la protéine A ou la biotine) sont conjugués à un atome radioactif (tritium, iode-125, etc.) alors qu'une enzyme (phosphatase alcaline, peroxydase de raifort, etc.) est utilisée dans un ELISA [54].

2.2.3 Avantages et inconvénient

- La sensibilité des méthodes en phase hétérogène est légèrement supérieure à celle des techniques en phase homogène
- Ces 2 méthodes sont difficilement automatisables car l'étape de séparation est indispensable : leur utilisation est donc limitée et mal adaptée à l'urgence
- La méthode RIA pose le problème de la manipulation et de l'élimination des matières radioactives

2.3 Immunochimie : technique EMIT

2.3.1 Principe

C'est un immun dosage optique en phase homogène : pas d'étape de séparation des complexes Ag-Ac.

Cette technique est fondée sur la compétition entre la molécule à doser(Ag) et l'antigène marqué par une enzyme, pour occuper les sites de liaison des anticorps, dont la fixation de l'Ag (substance à doser) à l'Ac libère l'Ag marqué

par l'enzyme qui va pouvoir réagir avec un substrat, on voit une activation de l'enzyme qui va pouvoir hydrolyser le substrat déjà existant.

L'absorbance ou la variation d'absorbance engendrée par la réaction permet la quantification de la molécule à doser par comparaison à une courbe de référence.

La lecture est obtenue dans l'UV par la réduction de nicotinamide di nucléotide (NAD), cofacteur de la réaction, qui se transforme en NADH absorbant à 340nm

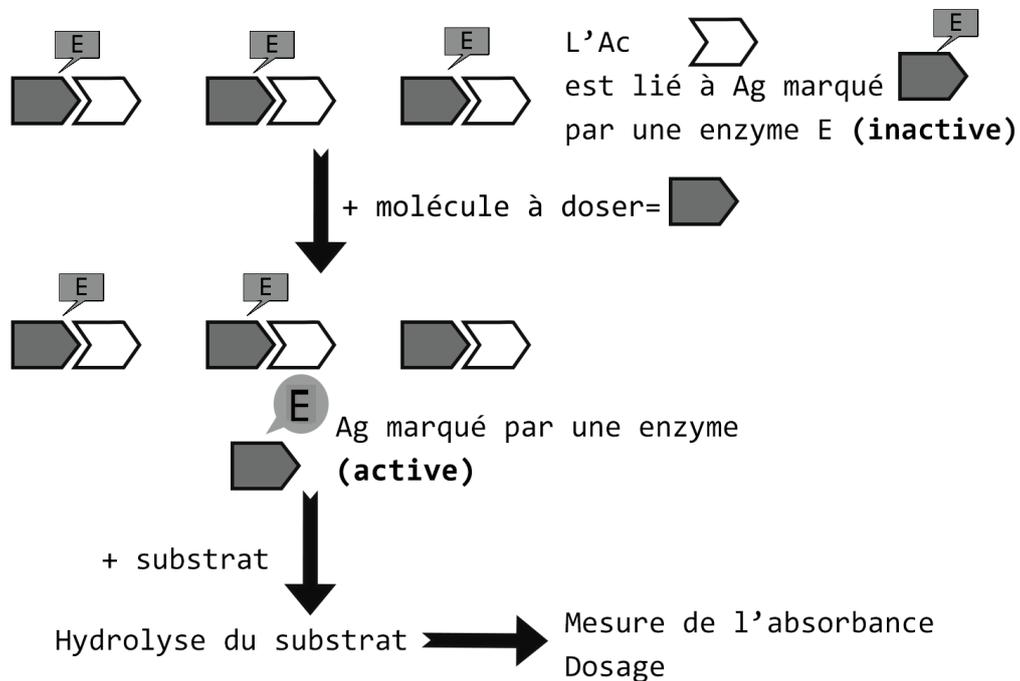


Figure 15 : mécanisme d'EMIT.

2.3.2 Avantages

- Méthode automatisable
- Les réactifs EMIT s'adaptent à de nombreux automates de biochimie
- Pas de prétraitement de l'échantillon, sauf pour la Ciclosporine et le Tacrolimus
- Appliquée à de nombreuses substances, surtout médicamenteuses
- Rapide : moins de 30 minutes
- Adaptée à l'urgence

2.3.3 Inconvénients

- Réactifs coûteux
- Toutes les molécules ne sont pas détectables en immunochimie : la possibilité de détecter une substance dépend de l'existence de kits
- En toxicologie : manque de spécificité. Identification de classe et non de molécule (existence de faux négatifs et de faux positifs)
- Résultat positif d'un immunodosage est une présomption jusqu'à ce qu'il soit confirmé par une technique séparative comme la CG/SM
- Sensibilité moins bonne qu'en immunodosage par polarisation de fluorescence (FPIA), si on travaille en qualitatif (positif 1 négatif) par rapport à un seuil de positivité

2.3.4 Résultats

- Résultats qualitatifs ou semi quantitatifs en toxicologie
- Résultats quantitatifs : pertinents dans le cadre d'un suivi thérapeutique d'une molécule connue.

2.4 Technique FPIA :

2.4.1 Principe

FPIA c'est fluorescence polarisation immunoassay, cette technique associe une compétition immunologique à une mesure de polarisation de fluorescence.

Son mécanisme est basé sur une compétition entre la molécule recherchée dans l'échantillon, et la même molécule ajoutée en quantité connue, marquée à la fluorescéine pour se fixer sur un Ac dirigé contre cette molécule.

On expose le milieu réactionnel à une lumière polarisée, et on mesure la polarisation de lumière de fluorescence réémise, qui est inversement proportionnelle à la quantité de molécule recherchée présente dans l'échantillon, au contraire, si la quantité de substance à doser est importante, le traceur sera peu fixé à l'Ac et restera libre dans le milieu réactionnel

METHODE FPIA: MECANISME. PEU DE SUBSTANCE A DOSER

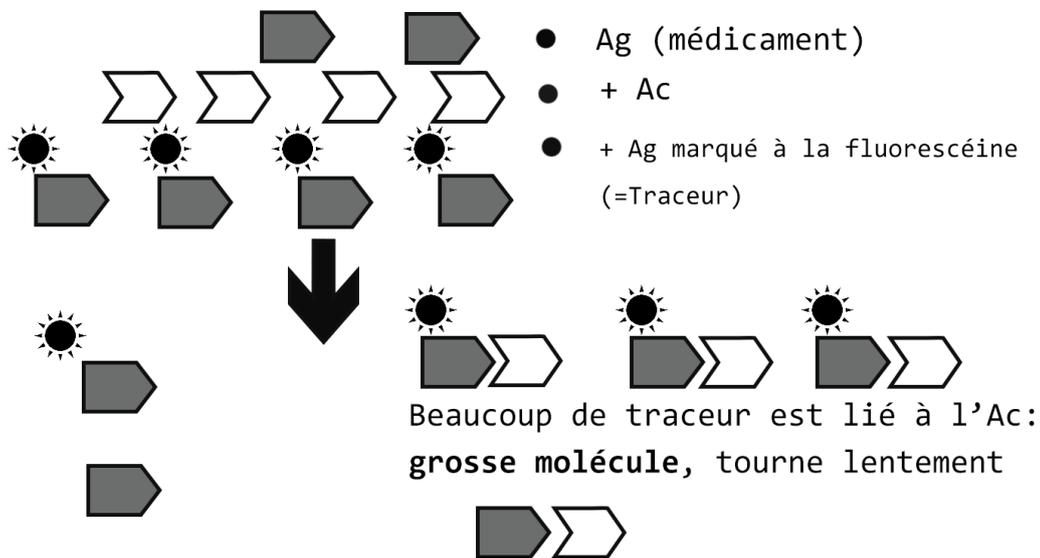


Figure 16 : mécanisme de FPIA.

• *Approximation semi-quantitative ou dosage grâce à un étalonnage en 6 points*

2.4.2 Avantages

- Méthode automatisable
- Traitement de l'échantillon sans phase préliminaire d'extraction, sauf pour la Ciclosporine
- Résultats rapides, en moins de 30 minutes
- Appliquée à de nombreuses substances, surtout médicamenteuses
- Adaptée à l'urgence

2.4.3 Inconvénients

- Réactifs couteux
- Toutes les molécules ne sont pas détectables en immunochimie : la possibilité de détecter une substance dépend de l'existence de kits
- Une drogue, non suspectée par le clinicien et dont la recherche n'a pas été spécifiquement demandée, n'est pas détectée à l'analyse
- Manque de spécificité en toxicologie : identification de classe et non de molécules

2.4.4 Résultats

- Qualitatifs ou semi quantitatifs : interprétation prudente
- o seuil choisi pour limiter les faux négatifs et les faux positifs
- •Résultats quantitatifs : pertinents dans le cadre d'un suivi thérapeutique d'une molécule connue

2.4.5 Applications

- Kits prêts à l'emploi : molécules détectables par FPIA

2.5 La technique KIMS

Kinetic Interaction of Microparticles in Solution (KIMS), interaction cinétique des microparticules en solution.

L'agglutination des microparticules a été utilisée comme système de signalisation dans des méthodes homogènes. Les réactions d'agglutination pour les médicaments utilisent des particules, généralement du latex, qui contiennent un médicament conjugué. L'addition d'anticorps (qui a deux sites de liaison)

aux particules enrobées de médicament provoque un pontage entre les anticorps et les particules pour produire des agglutinats. Le médicament présent dans un échantillon, ajouté au mélange d'anticorps et de particules conjuguées à un médicament, entre en compétition pour les sites de liaison d'anticorps et empêche donc l'agglutination. Dans ce type d'essai, le degré d'agglutination est inversement proportionnel à la quantité de médicament dans l'échantillon.

La base du système Roche Abuscreen Online consiste à surveiller la vitesse d'agglutination par des moyens spectrophotométriques [55].

La mesure de l'agglutination par KIMS (Online, Roche) autorise aussi des dosages en grande série [56].

3. Méthodes séparatives

3.1 Méthodes chromatographiques

La chromatographie : la chromatographie c'est une méthode physico-chimique permettant de séparer et d'analyser les constituants d'un mélange.

L'échantillon possède une ou plusieurs substances et sont entraînées par un courant de phase mobile (choisie selon la nature de la substance recherchée), au contact d'une phase stationnaire.

Chaque constituant adopte une vitesse de migration qui lui est propre en fonction de sa solubilité dans la phase mobile et de son affinité pour la phase stationnaire qui tend à le retenir [57].

On peut définir plusieurs types de techniques chromatographiques selon la nature de leur phase mobile :

- La chromatographie en phase gazeuse (C.P.G.) utilisant un gaz comme phase mobile
- La chromatographie en phase liquide (C.L.) où c'est un liquide qui remplit le rôle de phase mobile

Selon la mise en œuvre pratique de la méthode on distinguera dans cette dernière :

- La chromatographie de surface sur papier ou sur couche mince (C.C.M).
- La chromatographie sur colonne basse pression ou haute pression encore appelée Chromatographie Liquide Haute Performance (C.L.H.P.)
- La chromatographie Liquide Ultraproformante (U.P.L.C)

Selon les phénomènes mis en jeu pour réaliser la séparation, on distinguera au sein des deux techniques :

La chromatographie de partage (C.P.G. et C.L.) lorsque la séparation est fondée sur les différences de solubilité des molécules à séparer dans la phase liquide stationnaire qui imprègne un support solide.

La chromatographie d'adsorption (C.P.G. et C.L.) lorsque la phase stationnaire est un solide adsorbant, la séparation étant fondée sur les différences d'adsorption des composants du mélange par la phase stationnaire.

La chromatographie d'échanges d'ions (C.L.) où la phase stationnaire est un échangeur d'ions, c'est à dire un solide contenant des ions et susceptible de les échanger avec ceux de la solution avec laquelle il est en contact.

La chromatographie d'exclusion (C.L.) dite également chromatographie de perméation (ou filtration) sur gel. La phase fixe est un solide poreux dont la dimension des pores est proche de celle de certaines molécules du mélange à séparer. Les molécules du mélange dont la dimension est supérieure à celle des pores sont exclues de la phase fixe et sont d'abord éluées, celles qui peuvent y pénétrer sont entraînées avec un certain retard. Ce retard est d'autant plus grand qu'elles pénètrent facilement dans les pores.

3.1.1. Chromatographie sur couche mince

La chromatographie d'adsorption est une technique de séparation de composés basée sur la différence d'affinité existant entre ces composés, la phase mobile, qui entraîne les composés, et la phase stationnaire.

3.1.1.1 Principe

Le mélange est fixé sur un support appelé **phase stationnaire** (un gel de **silice** déposé en couche mince sur une plaque d'aluminium). Il est entraîné par un solvant approprié (**phase mobile ou éluant**) qui migre par capillarité sur la plaque. Les constituants du mélange se séparent par migration différentielle : chacun d'eux est d'autant plus entraîné par l'éluant qu'il est plus soluble dans celui-ci et moins adsorbé sur la phase stationnaire [60,57].

3.1.1.2 Appareillage [58]

- la cuve chromatographique : un récipient habituellement en verre, de forme variable, fermé par un couvercle étanche.

- la phase stationnaire : une couche d'environ 0,25 μm de gel de silice ou d'un autre adsorbant est fixée sur une plaque de verre à l'aide d'un liant comme le sulfate de calcium hydraté (plâtre de Paris) l'amidon ou un polymère organique.

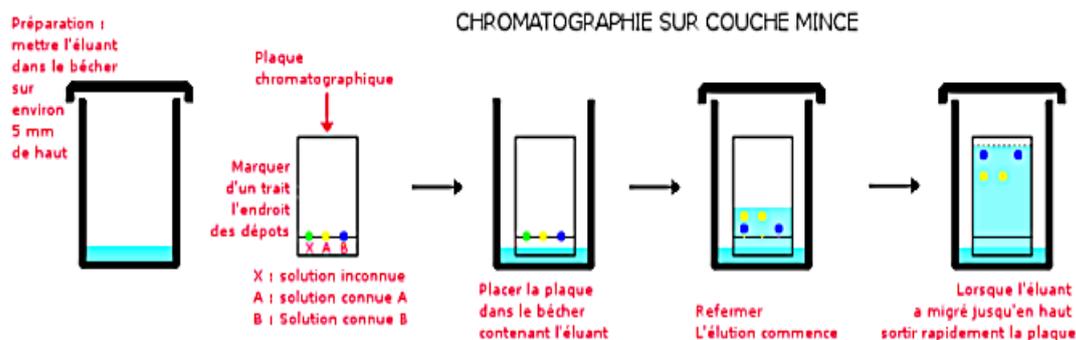
Par ordre d'importance décroissante, les adsorbants employés en CCM sont : le gel de silice, l'alumine, le kieselguhr et la cellulose.

- l'échantillon : environ un microlitre (μl) de solution diluée (2 à 5 %) du mélange à analyser, déposer en un point repère situé au-dessus de la surface de l'éluant.
- l'éluant : un solvant pur ou un mélange : il migre lentement le long de la plaque en entraînant les composants de l'échantillon.

Après migration les taches doivent être révélées ; c'est la détection qui peut se faire soit :

- Pulvérisation d'un réactif caractéristique.
- Par immersion dans un bain de permanganate de potassium.
- Par pulvérisation de vapeur de diiode.
- Par observation à la lumière UV si la plaque de silice comporte un indicateur de fluorescence.

3.1.1.3 Description de la méthode



Préparation de la cuve chromatographique.

- Introduire l'éluant ou le mélange de solvants.
- Ajuster le niveau à environ 0,5 cm du fond de la cuve.
- Garnir l'intérieur de la cuve d'un papier filtre imprégné d'éluant et plaqué contre les parois, une ouverture est ménagée dans le filtre pour observer le développement du chromatogramme.
- Fermer le récipient (la cuve doit être saturée de vapeur de solvant)

Dépôt de l'échantillon sur la plaque :

- Procéder au nettoyage de la plaque si nécessaire.
- Dissoudre l'échantillon dans un solvant approprié en solution de 2 à 5 %.
- Déposer environ 0,5 ml de la solution en un point situé à 1 cm de l'extrémité inférieure de la plaque, le diamètre de la tache doit être d'environ 2 mm pour la disposition de plusieurs produits.
- Sécher à l'aide d'un séchoir, éventuellement faire de nouvelles applications.

Développement du chromatogramme :

- Placer la plaque dans la cuve en position verticale.
- Refermer le récipient qui ne doit plus être déplacé.
- Lorsque le front du solvant se trouve à environ 1 cm de l'extrémité supérieure de la plaque, la retirer et marquer cette position. (Le trait peut être tracé à l'avance et servir de repère pour arrêter l'élution).

Révélation et calcul de Rf :

- Sécher la plaque à l'aide d'un séchoir
- Révéler les taches sous une lampe U V
- Cercler les taches et pointer leur centre.
- Calculer les Rf : $Rf = L1/L2$ étant le rapport entre la distance parcourue par le soluté divisé par la distance parcourue par le front du solvant.

3.1.1.4 Avantages

Identification rapide des composés d'un mélange

Résultat assez précis

3.1.1.5 Inconvénients

Uniquement qualitative

Nécessite plus de temps que les tests colorimétriques.

Il est possible que certains produits soient présents mais pas détectables avec nos révélateurs.

3.1.1.6 Applications

La CCM nous permet donc de mettre en évidence les substances psychoactives contenues dans un échantillon comme l'héroïne, cocaïne, amphétamine.

3.1.2 La chromatographie liquide haute performance HPLC :

C'est une méthode de séparation des constituants d'un mélange qui emploie un solvant comme phase mobile et un solide ou un liquide supporté par un solide comme phase stationnaire.

A l'origine le P de C.L.H.P correspondait donc au mot pression. En effet, la petite taille des particules de la phase stationnaire rend l'écoulement de la phase mobile difficile, on doit donc utiliser des pompes qui poussent le solvant sous des pressions très élevées.

La grande efficacité de la technique fait que le P désigne actuellement le mot performance [57].

3.1.2.1 Appareillage :

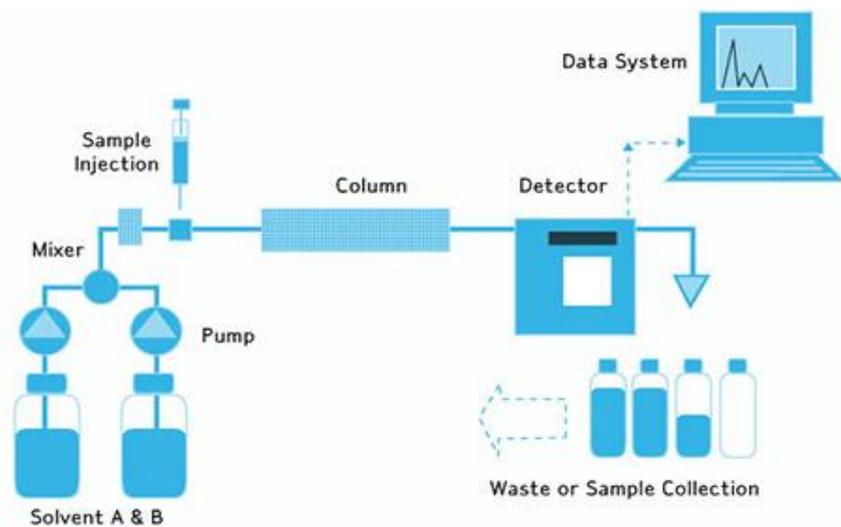


Figure 17 : appareillage HPLC

❖ La phase mobile : Réserve de liquide

➤ Ses propriétés

Les solvants utilisés comme phase mobile doivent posséder un certain nombre de propriétés qui sont les suivantes :

- un pouvoir solvant et une inertie chimiques vis-à-vis des solutés.
- une compatibilité vis-à-vis du système de détection.
- une insolubilité et une inertie chimique vis-à-vis de la phase stationnaire.
- une viscosité faible (pour un liquide, la viscosité diminue lorsque la température augmente).
- une stabilité et une faible toxicité.
- une miscibilité parfaite lorsqu'on utilise des mélanges de solvants.

➤ **Les réservoirs de solvants**

Les réservoirs sont étanches et de volume réduit pour éviter toute variation de la composition de la phase mobile pendant l'analyse. Le plus souvent ce réservoir est une bouteille en verre dans lequel plonge un tube avec une extrémité filtrante en téflon, celle-ci est exempte de poussières et de gaz dissous.

❖ **Le système de pompage**

➤ **La vanne de mélange**

Une vanne de mélange est un dispositif, piloté par micro-ordinateur qui permet la délivrance, par unité de temps, de solvants composant la phase mobile en proportion désirée.

En pratique, la pompe aspire le débit désiré et 4 vannes reliées aux réservoirs de solvants sont ouvertes pendant un laps de temps correspondant à la proportion désirée de chaque solvant pur dans la phase mobile.

➤ **Les pompes**

C'est un dispositif qui permet la délivrance d'un volume de phase mobile par unité de temps. Le flux en sortie doit être le plus régulier possible, sans pulsation et indépendant de la nature de la phase mobile. Il doit être surtout reproductible.

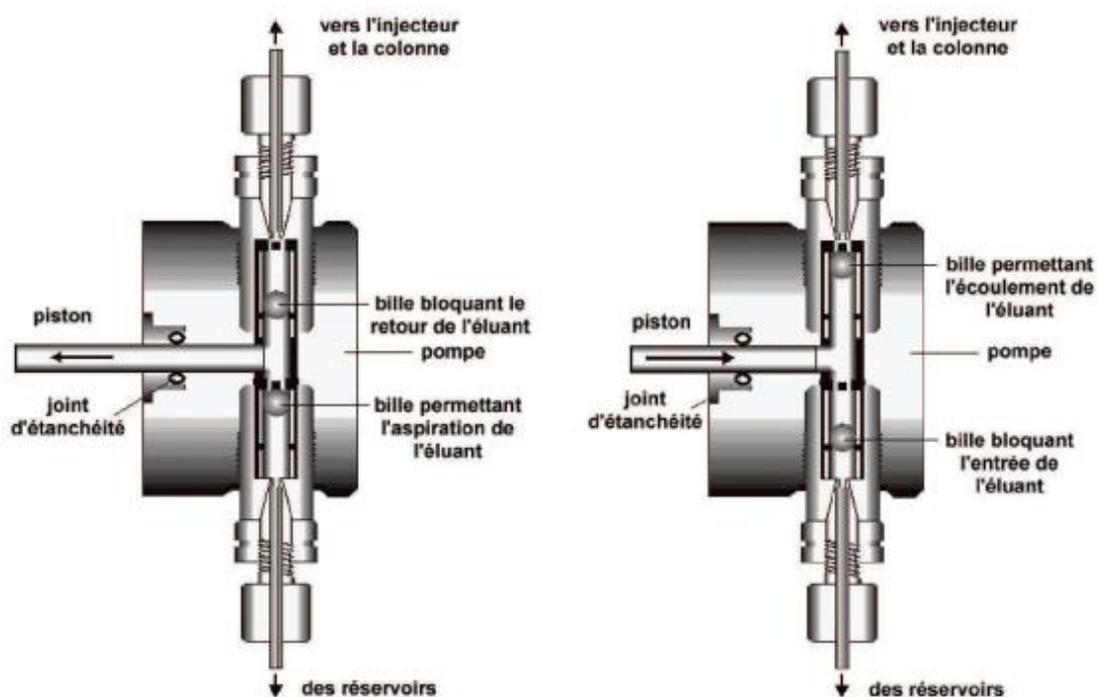


Figure 18 : Schéma des différentes pompes.

La grande majorité des pompes sont à piston alternatif afin d'éviter l'intermittence du débit inhérent au fonctionnement des pompes à simple piston (remplissage expulsion).

Les systèmes d'injection

L'injection doit être réalisée dans un temps très bref. Les injections directes de l'échantillon à travers un septum à l'aide d'une seringue qui ne sont utilisables que pour de faibles volumes injectés et sous faible pression sont rarement rencontrées, on préfère le procédé d'injection à boucle.

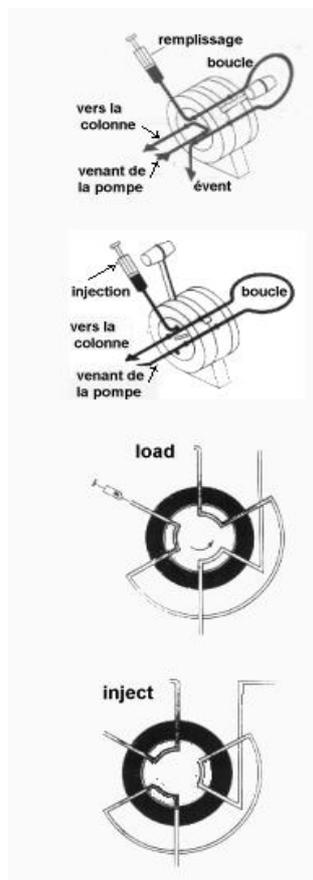


Figure 19 : schéma des injecteurs [58].

➤ La colonne et pré-colonne

La colonne se présente comme un tube, le plus souvent en acier, dont la longueur et le diamètre présentent des différences selon les modèles. Les colonnes « standard » dont le diamètre interne (DI) est d'environ 4,5 mm et la longueur de 10 cm, sont de plus en plus supplantées par des colonnes de plus faibles diamètres, baptisées narrow-bore (DI 2-4 mm), micro-bore (DI 1-2 mm), capillaires remplies (DI 0,1-1 mm). Ces modèles sont apparus suite à l'évolution des phases stationnaires customisées et pour simplifier les problèmes de couplage avec la spectrométrie de masse [59].

La colonne est souvent précédée d'une pré-colonne remplie de la même phase stationnaire très courte (0,5 à 1 cm). Son utilité est de protéger la colonne des poussières et des composés susceptibles de se fixer irréversiblement dessus.

De même, si un des composants présents dans le mélange à analyser se fixe de façon irréversible sur les sites actifs de la phase stationnaire, il se fixe sur les sites actifs de la phase stationnaire de la pré-colonne, préservant ainsi l'activité de la colonne [59].

La pré-colonne est changée périodiquement.

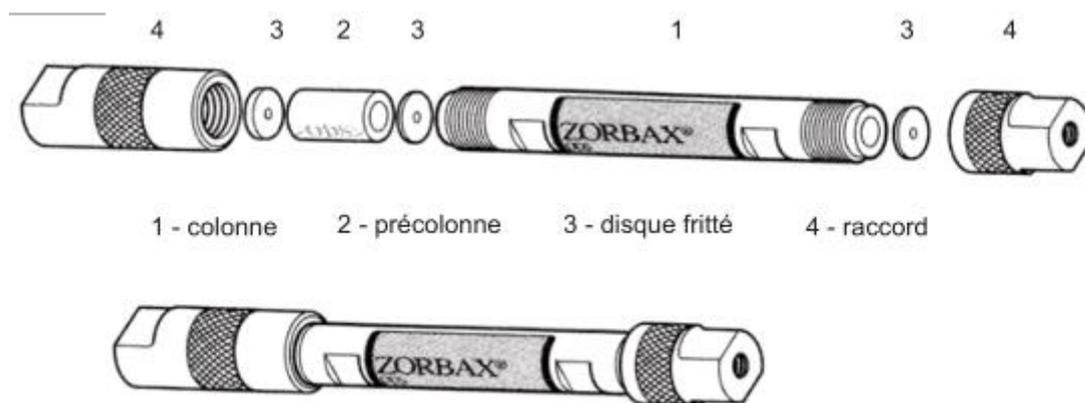


Figure 20 : schéma d'une colonne [60].

La phase stationnaire est maintenue entre deux disques frittés (de porosité suffisamment faible pour retenir les plus fines particules).

➤ Les phases stationnaires

Les principaux matériaux de base sont la silice et la résine styrène-di vinylbenzène.

Selon le mécanisme de séparation voulu, les phases stationnaires sont différentes :

En **chromatographie d'adsorption**, on utilise un adsorbant solide polaire du type silice ou alumine Al_2O_3 .

En **chromatographie de partage** en phase normale, la phase stationnaire est faite de silice greffée de composés organiques polaires, alors qu'en phase inverse la silice est greffée de molécules organiques apolaires.

En **chromatographie d'échange d'ions**, on utilise une résine ou la silice greffée de groupements acides ou alcalins.

En **chromatographie d'exclusion**, la phase stationnaire est un solide poreux dont la dimension des pores est voisine de celles des molécules à séparer.

➤ **Les détecteurs :**

Les détecteurs ont pour rôle de suivre en continu la présence des composés dans la phase mobile au fur et à mesure de leur élution. Ils doivent permettre une analyse quantitative. Parmi les diverses techniques de détection, la spectrométrie UV visible et la spectrométrie de masse sont les plus utilisées. Le spectromètre de masse qui permet une identification formelle des substances est d'une importance capitale en toxicologie.

➤ **Spectrométrie UV visible**

Le spectromètre UV visible mesure l'absorption de la lumière par les différents composés à la sortie de la colonne. Pour que ce type de détecteur soit utilisable, il faut que :

- le produit à détecter absorbe la lumière à une longueur d'onde accessible à l'appareil, et que son coefficient d'absorption λ soit suffisamment grand.
- la phase mobile n'absorbe pas la lumière à la longueur d'onde choisie.

➤ Spectrométrie de masse

Un spectromètre de masse se décompose en trois parties distinctes :

- La source où a lieu l'ionisation des molécules et la fragmentation des ions.
- Le système dispersif qui assure la séparation des ions suivant leur rapport masse/charge.
- Le détecteur mesure l'abondance relative de chaque ion.

Il existe d'autres types de détecteurs [60] :

- détecteurs spectroscopiques :
 - par spectroscopie d'absorption : infrarouge
 - par spectroscopie de fluorescence
- réfractométrie ;
- détecteurs électrochimiques (DEC) :
 - ampérométriques,
 - coulométriques,
 - polarographiques,
 - potentiométriques ;
- conductimétrie
- évaporatif à diffusion de la lumière (DEDL)
- détection spectrale avec couplage :
 - à la spectroscopie atomique

3.1.2.2 Avantages

Sa grande précision permet la recherche de traces, bonne résolution

3.1.3.3 inconvénients

Cout cher, Technique simple, Technique limitée avec des masses moléculaires élevées, Dénaturation possible des protéines par les phases mobiles organiques

3.1.3.4 Applications

C'est une méthode de dépistage toxicologique large de xénobiotiques médicamenteux dans le sérum, les AINS, les antidépresseurs, les hypnotiques

3.1.3 La chromatographie ultra performance en phase liquide

L'UPLC c'est la forme améliorée de la chromatographie liquide haute performance, faisant appel aux mêmes principes que l'HPLC, améliorée sur trois niveaux qui sont, la résolution chromatographique, la vitesse d'analyse et la sensibilité [61].

3.1.3.1 Principe :

La chromatographie liquide ultraperformance, utilisée principalement pour identifier, quantifier, et séparer les composants d'un mélange, repose sur l'emploi de phase stationnaire composée de particules inférieures à 2 μm (5 μm pour HPLC). Ces particules plus petites nécessitent une pression plus élevée (100MPa vs. 40 MPa), le débit de la pompe est de 0.05 à 8.0 mL / min, le volume d'injection est de 1 à 100 μL , et on peut utiliser une température très élevée allant jusqu'à 110 ° C, et pour le système de détection, il y a plusieurs types de détecteur comme UV / VIS, 190 à 800 nm et la Fluorescence [61].

3.1.3.2 Appareillage :

Pour vraiment profiter de la vitesse accrue, de la résolution et de la sensibilité supérieure grâce aux petites particules, la technologie des instruments devait également suivre le rythme. Une nouvelle conception du système avec une technologie de pointe dans la pompe, échantillonneur automatique, détecteur, données système et des diagnostics de service étaient requis [61].

Injection d'échantillon L'utilisation de l'injecteur consiste à ajouter précisément mesuré, un petit volume de solution contenant l'échantillon en phase mobile. L'injection doit être effectuée de manière reproductible et précise. Les vannes d'injection conventionnelles peuvent être manuelles ou programmées et pour protéger la colonne des instabilités de pression extrêmes, le processus d'injection doit être relativement sans impulsions. Pour réduire l'étalement potentiel de la bande, le volume balayé de l'appareil doit être minimal. Un temps de cycle d'injection rapide est nécessaire pour profiter pleinement de la vitesse offerte par UPLC. Pour augmenter la sensibilité, des injections à faible volume avec un transfert minimal sont nécessaires. Le volume de l'échantillon dans UPLC est généralement de 2 à 5 μL . De nos jours, des approches par injection directe sont utilisées pour les échantillons biologiques [61].

❖ **La pompe**

L'UHPLC fonctionne comme la HPLC de la manière suivante : l'appareil contient un réservoir de solvant. Ce solvant est appelé éluant ou phase mobile. La pompe la phase mobile avec une vitesse et une pression constantes vers la colonne. Ceci est réalisé en utilisant deux pistons qui fonctionnent en phase inverse. Lorsqu'un piston presse l'éluant dans la colonne, l'autre piston aspire l'éluant du réservoir. Si ce principe n'est pas utilisé, une pression et un débit stables ne peuvent pas être atteints. Une pression et un débit stables sont nécessaires car ces paramètres influencent le temps de rétention [61].

❖ L'injecteur

L'injecteur injecte l'échantillon à examiner dans la phase mobile entre la pompe et la colonne. Souvent, cela se fait automatiquement au moyen d'un échantillonneur automatique car cela donne de meilleurs résultats et ils peuvent être mieux reproduits. Différents types d'injecteurs sont disponibles avec différentes quantités d'orifices d'injection. L'injecteur à six ports est le plus couramment utilisé dans les analyses à colonne unique [61].

❖ La colonne

La phase mobile et l'échantillon arrivent dans la colonne. La phase stationnaire est dans la colonne. La phase stationnaire est constituée d'un matériau qui assure la séparation. C'est ce qu'on appelle la phase stationnaire car le matériau est maintenu en place par la colonne. La phase mobile et l'échantillon sont pompés à travers la colonne sous pression. La vitesse à laquelle les divers analytes traversent la colonne dépend de l'attraction de l'analyte vers la phase mobile. Les analytes qui sont très attirés par la phase stationnaire mettent plus de temps à traverser la colonne, tandis que les analytes qui sont attirés par la phase mobile se déplacent plus rapidement dans la colonne. Cela est dû à la polarité de l'analyte et à la polarité de la phase stationnaire et mobile. L'analyte est attiré si la phase et l'analyte ont la même polarité. Le temps nécessaire à un analyte pour parcourir la colonne est appelé temps de rétention [61].

❖ Le détecteur

Après la colonne, l'analyte se retrouve devant un détecteur. Il existe de nombreux types de détecteurs. Certains détecteurs sont : un fluorescent mètre,

un détecteur d'absorption UV, un détecteur électrochimique et la spectrométrie de masse. Le type de détecteur dépend de la substance étudiée. Par exemple, si la substance absorbe la lumière UV, un détecteur d'absorption UV est utilisé. Le couplage d'une HPLC ou UHPLC à un spectromètre de masse est abrégé en LC / MS. Les données vont du détecteur à un ordinateur qui fait un chromatogramme. Un chromatogramme est une représentation de la séparation qui s'est produite dans l'analyse. Un chromatogramme montre une ligne de base qui représente la phase mobile lorsqu'elle s'écoule à travers le détecteur. Si un analyte est «vu» par un détecteur, une réponse est créée. Il en résulte un pic dans le chromatogramme. Plus un analyte est rapide dans la colonne, plus tôt le pic du chromatogramme peut être vu. La hauteur du pic dépend de la concentration de l'analyte traversant le détecteur à ce moment. Les analystes qui se déplacent dans la colonne à un rythme plus lent ont souvent une base plus large mais une hauteur de pic inférieure. Le fluide peut être collecté après le détecteur pour des tests supplémentaires [61].

Les principales différences entre HPLC et UHPLC sont l'utilisation de particules plus petites dans la colonne UHPLC et la plus grande pression sous laquelle l'UHPLC fonctionne. Des expériences dans lesquelles l'UHPLC et la HPLC ont été couplées à un spectromètre de masse (UHPLC-MS et HPLC-MS) ont montré que l'UHPLC-MS offrait des performances bien meilleures. Les deux appareils ont analysé l'urine des souris. L'objectif était de détecter les métabolites dans l'urine. La branche de la science qui traite de l'analyse des métabolites est appelée métabolomique. La spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN) est souvent utilisée pour cela, mais HPLC-MS et UHPLC-MS sont également de plus en plus choisis. Le HPLC-MS a détecté

2000 métabolites différents tandis que l'UHPLC-MS a pu détecter 13000 métabolites différents. Cette grande différence a été principalement attribuée à la plus grande capacité de séparation. L'UHPLC sépare mieux les métabolites les uns des autres et, par conséquent, les métabolites ne sortent pas en même temps de la colonne, de sorte qu'ils ne s'influencent pas mutuellement. Dans la HPLC, il est plus courant que les métabolites atteignent la fin de la colonne en même temps, de sorte que les métabolites s'influencent mutuellement l'ionisation et donc aussi le résultat du spectromètre de masse. Ce phénomène est appelé «suppression ionique». Un autre avantage est que les pics de l'UHPLC-MS sont beaucoup plus élevés de sorte que de petits pics pourraient être détectés alors qu'ils auraient normalement été supprimés en tant que bruit de fond. Selon l'un des fabricants de l'UHPLC (Waters), l'UHPLC est plus rapide, plus sensible et a une plus grande résolution.

3.1.3.3 Avantage et inconvénients de l'UHPLC par rapport de HPLC

Comme avantages on trouve la réduction des débits, la réduction du temps d'analyse, et la résolution identique à L'HPLC, la capacité de pics augmentée, l'intensité des pics plus importante.

Les inconvénients sont par rapport aux appareils et colonnes qui sont très coûteux, l'entretien est plus fréquent, et la durée de vie des colonnes plus faible.

3.1.4 La chromatographie Supercritique (SFC)

3.1.4.1 Principe

L'utilisation d'un fluide supercritique pour réaliser une analyse chromatographique n'est pas une technique récente (première publication datant de 1962), plusieurs évolutions des appareillages ont redonné un véritable intérêt pour l'utilisation de la SFC. Cette dernière utilise des colonnes de séparation de type colonne remplies et un gradient de co-solvant associé au CO₂ pour l'élution des composés. Pour ce type de SFC, l'ajout d'un régulateur actif de pression en sortie de colonne, le développement de pompes calorifugées et la maîtrise totale de l'introduction de l'échantillon dans le circuit sous pression ont permis d'augmenter la robustesse et la fiabilité des analyses [62].

Désormais, il est possible d'exploiter au maximum les propriétés de ces phases mobiles spécifiques et de coupler ceci au large éventail de phases stationnaires utilisées en LC. Il y'a un grand avantage d'éluer beaucoup de composés sans risquer de les dégrader thermiquement. Bien comprendre les spécificités des phases mobiles et stationnaires employées en SFC afin de tracer au mieux l'intérêt d'une telle technique pour la caractérisation des huiles de pyrolyse rapide est donc nécessaire [62].

3.1.4.2 Appareillage :

❖ Les phases mobiles utilisées en SFC

Après plusieurs essais employant une large variété de fluides, le choix du dioxyde de carbone (CO₂) est apparu comme unanime. En effet, ce dernier regroupe plusieurs avantages : fluide peu coûteux, non inflammable, facilement disponible en qualité supérieure, inerte et présentant une faible absorbance en UV. A cela s'ajoute des conditions critiques facilement maintenues (71 bars et 31 °C) et surtout un large panel de solvants organiques miscibles (261 substances recensées par A.W. Francis).

La densité d'un fluide supercritique varie avec la pression et la température. Pour le CO₂ pur, il varie de 0.2 à 1.1 g/mL, c'est-à-dire entre la densité d'un gaz et celle d'un liquide [62].

Pourtant, le CO₂ seul reste limité pour la solubilisation de tous les analytes. C'est pourquoi actuellement, la grande majorité des analyses SFC emploient une phase mobile composée de CO₂ et d'un co-solvant organique pour augmenter cette solubilité et éviter des phénomènes de précipitation lors de l'injection des échantillons. L'augmentation du taux de co-solvant va donc provoquer une modification du pouvoir solvant de la phase mobile au cours du temps. D'ailleurs, ces co-solvants vont aussi permettre de réduire l'élargissement des pics en réduisant les interactions non désirées avec les phases stationnaires.

Typiquement, la phase mobile d'une méthode SFC pour l'analyse d'un échantillon constitué de composés de polarité très variable correspondra à un mélange de CO₂ et de co-solvant pouvant varier entre 5 et 50 % au cours de l'analyse. En modifiant ainsi la composition de la phase mobile, on modifie également les valeurs critiques de cette phase mobile [62].

❖ Les phases stationnaires utilisées en SFC

On emploie des phases stationnaires polaires, à cause du caractère polaire de CO₂, ce qui pourrait ressembler de la chromatographie en phase liquide à polarité de phase normale. Cependant, l'ajout d'un co-solvant organique dans la phase mobile permet également l'utilisation de colonnes usuellement employées en chromatographie en phase liquide à polarité de phase inversée.

Ces différentes possibilités ont été investiguées dans divers travaux de la littérature [62].

L'ajout de co-solvant dans le CO₂ comprimé a pour objectif d'unifier des deux domaines distincts en chromatographie liquide offrant aussi bien une large gamme d'applications possibles [62].

3.1.5 La chromatographie en phase gazeuse

3.1.5.1 Principe

La chromatographie en phase gazeuse est spécialement réalisée en faveur des molécules présentes naturellement à l'état gazeux, ou rendues volatiles après dérivation, ainsi que pour tous les composés susceptibles d'être volatilisés par élévation de température.

Contrairement à la chromatographie liquide haute performance, la phase mobile ne présente aucune interaction avec les solutés. Le gaz vecteur sert uniquement de transport aux composés tandis que la séparation proprement dite s'effectue au contact de la phase stationnaire par la mise en jeu d'interactions [57].

3.1.5.2 Appareillage

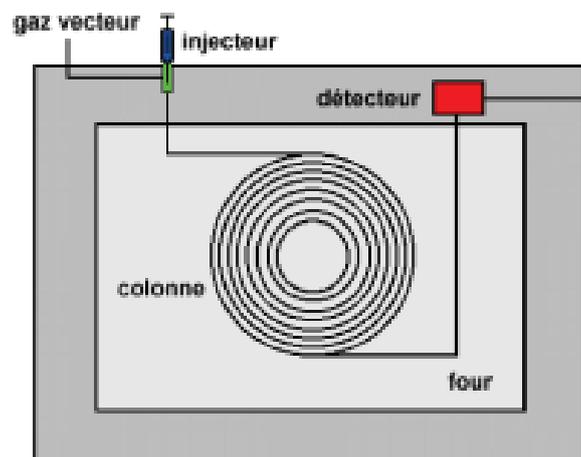


Figure 21 : L'appareillage utilisé en chromatographie en phase gazeuse. Gaz vecteur

Le gaz vecteur doit répondre aux critères suivants : grande pureté, inerte vis-à-vis des composés à analyser, faible viscosité, conductibilité thermique compatible avec le système de détection. On peut utiliser l'azote, l'argon, l'hélium ou, très exceptionnellement, l'hydrogène (révéler dangereux à cause de son extrême explosibilité) [57].

❖ Système d'injection

C'est un dispositif permettant la vaporisation de l'échantillon (qu'il soit solide, liquide ou gazeux) et sa dispersion au sein du gaz vecteur ou son dépôt sur la phase stationnaire. Il existe essentiellement deux techniques d'injection : la vaporisation directe (splitless), soit l'introduction dans la colonne d'une fraction de ce qui est injecté (split) [24].

❖ L'injecteur à vaporisation directe

L'échantillon est introduit dans la chambre d'injection et de vaporisation au travers d'une pastille en élastomère, les propriétés de dilatation de l'élastomère refermant le passage de l'aiguille après le retrait de celle-ci [57].

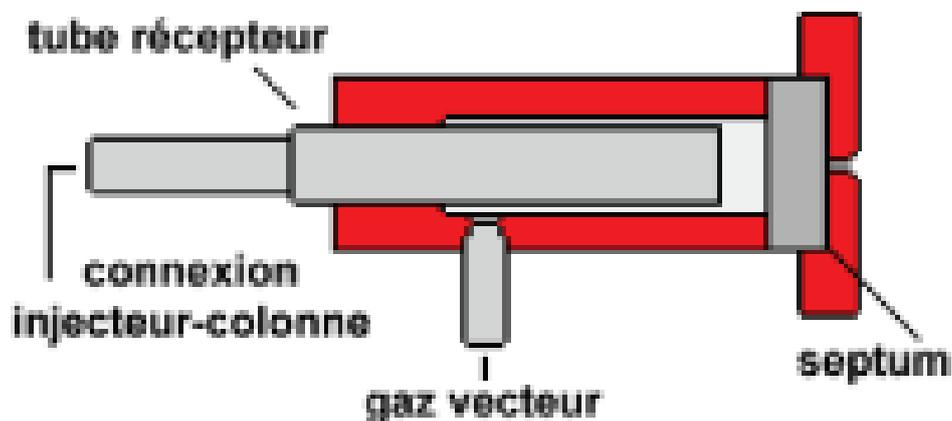


Figure 22 : Schéma de l'injecteur à vaporisation directe.

❖ L'injecteur diviseur ou split/splitless

C'est l'injecteur le plus répandu. Il peut fonctionner soit en injection directe sans division (splitless), soit en mode division (split). Avec l'injecteur split, le gaz vecteur est divisé en deux flux, dont l'un pénètre seul dans la colonne, l'autre s'échappant par un système de fuite, selon un rapport réglable. Avec l'injecteur splitless, la vanne de fuite est fermée pendant l'injection (de 30 secondes à 1 minute), le solvant et le soluté sont piégés en tête de colonne grâce à une faible température de four, devant être inférieure à la température d'ébullition du solvant [57].

L'augmentation de la température du four permet ensuite d'éluer les composés et le solvant qui sort en premier.

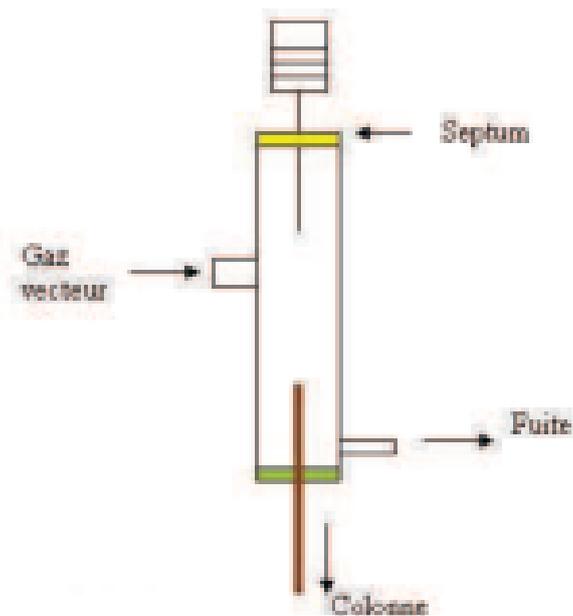


Figure 23 : schéma de l'injecteur diviseur ou split.

❖ La colonne

Il existe deux groupes de colonnes, selon leurs dimensions :

- les colonnes remplies, les plus anciennes, en acier inoxydable ou en verre ont une longueur variable entre 1 et 4 m et un diamètre intérieur compris entre 1 et 4 mm [57].

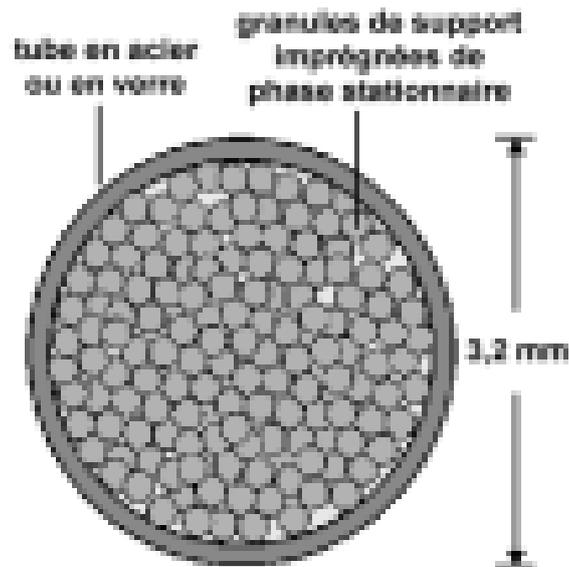


Figure 24 : schéma de colonne remplie.

- Les colonnes capillaires, les plus utilisées actuellement, sont en silice fondue, ont une longueur de 10 à 60 m et un diamètre compris entre 0,1 et 0,53 mm. On distingue les PLOT (Porous Layer Open Tubular) où la phase stationnaire est un solide poreux non imprégné, les SCOT (Support Coated Open Tubular) où la phase stationnaire est un solide imprégné, et les WCOT (Wall Coated Open Tubular) dont la paroi est recouverte d'un film liquide greffé ou non [57].

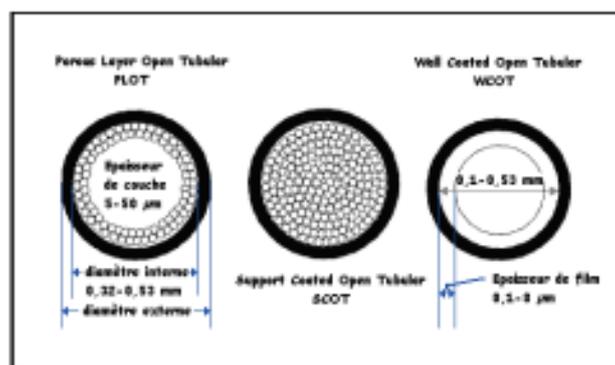


Figure 25 : schéma de colonne capillaire.

❖ Les phases stationnaires

Les phases stationnaires solides sont constituées de petites particules de granulométrie très homogène. Elles comprennent :

- les tamis moléculaire (cristaux d'aluminosilicates) qui retiennent les molécules en fonction de leurs dimensions dans leurs micropores, lesquelles se détachent ensuite lors d'une élévation de température
- des polymères poreux type Porapak (polymérisation de vinyl-éthylbenzène en présence de diviyl-benzène), qui conviennent pour la séparation de composés polaires à points d'ébullition élevés tels que les alcools ou amines.

Les phases stationnaires liquides, les plus utilisées, sont :

- dans le cas des colonnes remplies, imprégnées sur un support solide, le plus souvent à base de silice (Chromosorb), de grande stabilité thermique et inerte
- dans le cas des colonnes capillaires, déposées sous forme de film.

Elles peuvent être réparties en quatre grands groupes : 50

- polyesters de glycols, phase polaire
- polyéthers de glycols, phase polaire
- silicones (polysiloxane), phase de polarité variable
- carbures saturés, phase apolaire.

❖ Four

Le four doit posséder une excellente stabilité thermique. L'homogénéité de la température est assurée par un système de ventilation, sous le contrôle d'un programmeur de température contrôlant les températures initiale et finale, les durées de chaque palier, ainsi que la programmation de température qui peut varier de 0,1 à 120°/min. L'analyse peut donc se dérouler soit en mode isotherme, soit en programmation de température [57].

❖ Détecteurs

La gamme des détecteurs disponibles en chromatographie en phase gazeuse est très étendue, beaucoup plus large qu'en chromatographie liquide haute performance. L'amélioration des colonnes capillaires en silice fondue, nous mène au couplage direct de la chromatographie en phase gazeuse à la spectrométrie de masse, a conduit au succès du couplage CPG-SM.

Dans le couplage CPG-MS, le spectromètre de masse peut être utilisé selon deux modes différents d'utilisation :

- en mode qualitatif, permettant l'obtention du spectre de masse de chacun des solutés chromatographie et leur identification.
- en mode quantitatif, fondé sur son utilisation comme détecteur spécifique d'ions caractéristiques choisis dans le spectre de masse.

3.1.5.4 Avantages

Rapide, séparation à température très élevée

3.1.5.5 Inconvénients

Sélectivité limitée

3.2 Electrophorèse capillaire

ELECTROPHORESE :

le phénomène d'électrophorèse, découvert en 1892 par Linder et Picton et développé en tant que méthode analytique et préparative dans les années 30 par Tiselius (Nobel 1949), décrit que des macromolécules (protéines, acides nucléiques), des particules, des grains d'émulsion, ou même des bactéries, présentent dans une solution suspension, tendent à se déplacer sous l'effet d'un champ électrique [63].

Electro : énergie électrique, Phoresis : phoros (Grec) porter, avoir en soi.

Principe :

Une technique d'analyse et de séparation basée sur la charge électrique et la taille des molécules. La migration différentielle de particules chargées électriquement, se fait sous l'influence d'un champ électrique.

Seules les particules chargées positivement ou négativement sont attirées par les pôles opposés du champ électrique. Les composés qui peuvent être transformés en particules chargées par formation de complexes, sont de même auront une migration sous l'effet du champ électrique [64].

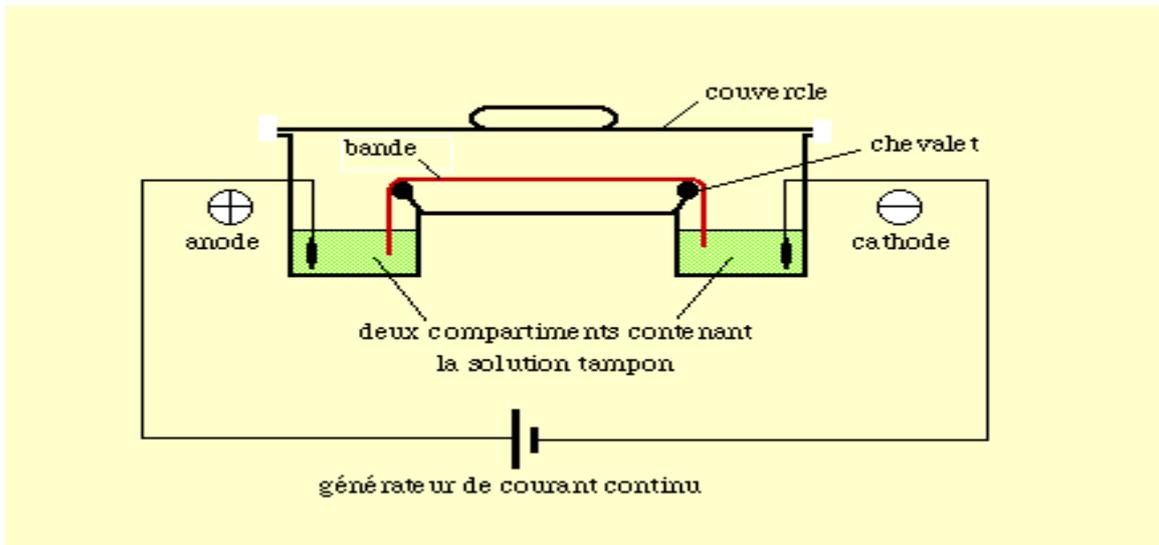


Figure 26 : Schéma d'un système électrophorétique.

Appareillage

- Générateur
- Cuve : horizontale, verticale, capillaire
- Electrodes
- Selon les cas on opère soit à intensité, soit à tension, soit à puissance constante
- Densitomètre
- Détecteurs

Spectrophotométrie d'absorbance

- V.V- visible : la plus utilisée
- Mesure directement à travers les capillaires en silice fondue
- Fluorimétrie
- Directement= moins universelle
- Marquage par dérivation
- Conductimétrie
- Directement dans capillaire

Différence conductivité entre échantillon et électrolytes

Electrochimie

- Sélectif : ne détecte que espèces oxydo-réductrice

Spectrométrie de masse

Radiométrie

3.2.1 Principe de l'électrophorèse capillaire

L'électrophorèse capillaire (EC) est une technique d'analyse au même titre que les techniques chromatographiques. Le capillaire est rempli avec un électrolyte. L'échantillon contenant les molécules à séparer est injecté à l'une des deux extrémités. Ces dernières sont ensuite immergées dans deux récipients contenant ce même électrolyte et recevant les électrodes. Sous l'action d'un champ électrique, les constituants se séparent progressivement au sein de l'électrolyte par différence de vitesses de migration et sont détectés à proximité de l'autre extrémité du capillaire. Des voltages très importants (plusieurs

dizaines de kV) sont utilisés pour séparer les molécules sur la base de leur différence de rapport charge/taille. Le tracé obtenu en EC est appelé électrophorégramme [65].

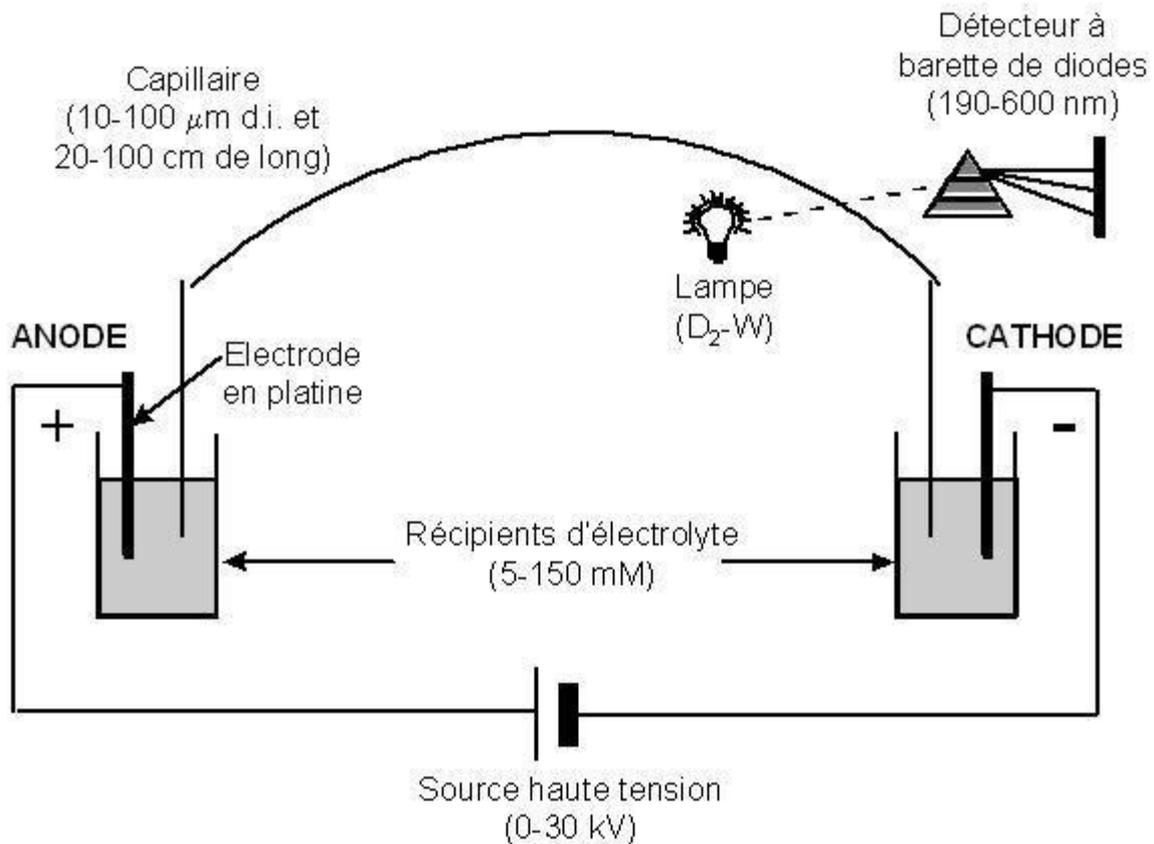


Figure 27 : Schéma de l'électrophorèse capillaire [66].

Avec l'électrophorèse capillaire, le "cœur" du système d'analyse est un tube capillaire. Ce sont généralement des capillaires de silice fondue ayant des diamètres internes de 20 à 100 µm, des longueurs de 20 à 100 cm et contenant une solution tampon. Extérieurement, ils sont recouverts avec une substance polymérique qui leur confère une grande flexibilité.

L'échantillon est introduit la plupart du temps à l'anode et cette injection peut se faire de plusieurs façons :

- par différence de pression (création de vide en sortie du capillaire ou de surpression en entrée),
- par siphonnement (injection hydrostatique),
- à l'aide d'une valve d'injection,
- par injection électrophorétique.

La quantité d'échantillon à injecter est très faible (de l'ordre du ng) mais sa concentration doit être relativement importante pour permettre la détection (de l'ordre du pg.ml⁻¹). Ceci du fait que le volume pouvant être injecté sans perturber la séparation est très faible (de l'ordre du nl). En effet, la résolution et les plateaux théoriques des analyses par CE diminuent quand augmente la quantité injectée. D'autre part, le temps d'injection doit être aussi court que possible. Une fois que l'échantillon est injecté et le champ électrique appliqué, les solutés se séparent en fonction de leur différence de mobilité. Cela est due à la présence d'un flux de solution électriquement induit dans le capillaire, c'est le flux électroosmotique (EOF) permet de pomper les solutés vers le détecteur. Après une durée d'analyse de 15 à 20 minutes, les solutés passent devant une "fenêtre", un détecteur, sur le capillaire et sont détectés en UV/Visible. La séparation est basée sur la différence d'électromobilité des composés c'est-à-dire sur la différence de vitesse des molécules dans un champ électrique. Le champ électrique est fonction du voltage appliqué et de la longueur du capillaire (V/cm). Si les champs électriques utilisés en HPCE excèdent 300 ou 400 V/cm, les intensités sont par contre de l'ordre de quelques dizaines de μ ampères seulement [65, 64].

Les molécules sont séparées de la façon suivante :

- les cations migrent dans la même direction que l'EOF,
- les anions sont attirés vers l'anode (+),
- les neutres migrent à une vitesse intermédiaire entre celle des espèces anioniques et celle des espèces cationiques et ne seront pas bien séparées. Plus le rapport masse/charge est élevé, plus la vitesse de migration électroosmotique est élevée en valeur absolue. Cependant, quelle que soit leur charge, toutes les molécules sont entraînées vers la cathode par l'EOF. La vitesse de migration effective des molécules est donc la résultante de la vitesse de l'EOF et de la vitesse d'origine électrostatique.

Ainsi la détection des différentes molécules à la cathode se fait dans l'ordre suivant :

- cations
- neutres
- anions.

3.2.2 Applications

L'analyse de la méthaqualone dans le sang, l'urine, le contenu gastrique et les cheveux a été démontrée.

Dans un cas d'intoxication mixte, l'atropine, la strychnine et la tétracaïne ont pu être analysés simultanément dans un échantillon de sang.

3.2.3 Les différentes techniques d'électrophorèse capillaire

❖ **Electrophorèse capillaire de zone (CZE) ou electrophore.se capillaire en solution libre (FSCE).**

L'électrophorèse capillaire de zone est non seulement la forme la plus simple de CE mais aussi la forme la plus utilisée. A partir de cette forme d'électrophorèse capillaire, il est possible de décliner toutes les autres formes par l'addition de réactifs spécialisés (spécifiques) au tampon de séparation.

❖ **Chromatographie électrocinétique micellaire (MECC).**

La MECC est un mode unique de la HPCE, capable de séparer aussi bien les solutés neutres que les solutés chargés. Est très efficace pour la séparation des solutés neutres et hydrophobes.

La MECC a été appliquée à l'analyse d'anti-inflammatoires non stéroïdiens dans le plasma.

❖ **Electrophore.se capillaire sur gel (CGE)**

La CGE est l'équivalent en HPCE de V électrophorèse conventionnelle sur plaque, Elle est utilisée pour la séparation stérique des macromolécules biologiques telles que les oligonucleotides, les fragments d'ADN et les protéines

❖ **Focalisation isoélectrique capillaire (CIEF)**

La focalisation isoélectrique capillaire est utilisée pour la séparation des biomolécules, principalement les protéines, en fonction de leur point isoélectrique (pI). La CIEF est réalisée en remplissant le capillaire avec un mélange d'ampholytes et d'échantillon, et en réalisant un gradient de pH.

❖ **Isotachophorèse (ITP) ou isotachophorèse capillaire (CITP)**

L'isotachophorèse utilise deux systèmes de tampon différents. La prise en sandwich des solutés entre un électrolyte frontal et un électrolyte postérieur crée un état stable au sein duquel les zones de solutés migrent l'une derrière l'autre en ordre de mobilité décroissante.

3.3 Méthodes d'analyses atomiques

3.3.1. Spectrométrie d'absorption atomique

La spectrométrie d'absorption atomique c'est une technique de spectroscopie atomique servant à déterminer la concentration de certains métaux ainsi que certains métalloïdes dans un échantillon.

3.3.1.1 Principe

L'absorption atomique est le phénomène observé lorsqu'un atome à l'état libre absorbe un rayonnement électromagnétique monochromatique à une longueur d'onde spécifique et passe à un état excité. Une partie du rayonnement correspondant à des longueurs d'ondes bien définies sera absorbée. Il en résulte un spectre de raies noires sur fond clair, c'est le spectre d'absorption [68].

A l'état normal, un atome possède un ou plusieurs électrons qui se trouvent à un niveau d'énergie E_0 dit niveau fondamental. Lors de l'absorption d'un photon, l'atome passe à un état excité et, comme cet état est instable, retombe à un niveau fondamental en réémettant un ou plusieurs photons selon les cas. Le quantum d'énergie ainsi absorbé ou émis, correspond à la différence d'énergie des 2 niveaux intéressés. Passage de l'électron de son niveau fondamental au niveau immédiatement supérieur, puis au retour de ce niveau instable vers le niveau fondamental [69].

La radiation qui résulte à ce type de transition est dite radiation de résonance, car la lumière monochromatique réémise est de fréquence identique à celle envoyée.

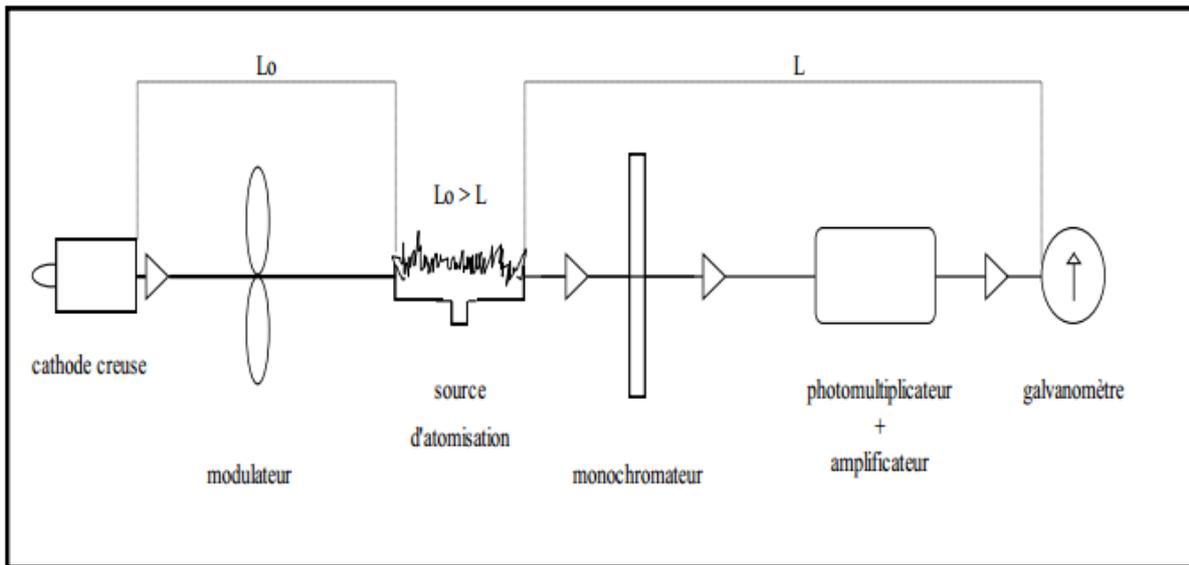


Figure 28 : Schéma de l'appareillage en SAA [70].

3.3.1.2 Appareillage

3.3.1.2.1 La source (générateurs de photons)

la source doit avoir comme qualité essentielle, est la stabilité, son énergie ne doit pas varier au cours du temps de l'opération, aussi bien une luminescence élevée pour le spectre souhaité avec un fond continu faible, avec une durée de vie assez longue, et un coût modéré.

1 - Lampes à vapeur spectrale :



Figure 29 : photo d'une lampe à vapeur spectrale [71].

Lorsque le métal dont on veut obtenir le spectre est aisément volatilisable, il suffit de l'introduire dans une enceinte sous vide qui comporte une anode et une cathode. Une différence de potentiel est appliquée et permet le chauffage et l'allumage.

Les lampes les plus utilisées sont à vapeur de mercure, de thallium, de métaux alcalins (surtout le césium).

2 - Lampes à cathode creuse

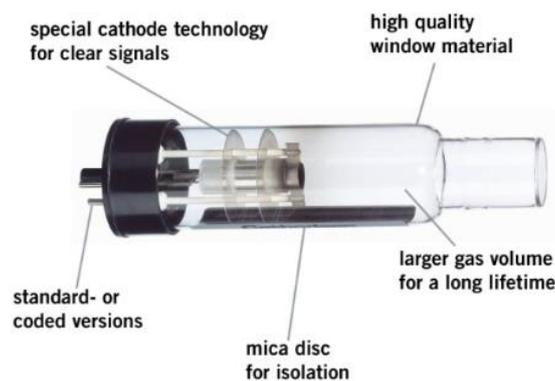


Figure 30 : photo d'une lampe à cathode creuse [72].

Une lampe à cathode creuse ayant pour cathode l'élément étudié, produit un spectre d'émission caractéristique de l'élément sous l'effet d'une décharge électrique. La lumière traverse le compartiment où elle est absorbée par l'échantillon atomisé [73]. Cette lampe est constituée d'un tube rempli sous très faible pression d'un gaz rare comme hélium, argon, néon.

Et l'anode est un fil métallique en tungstène.

Il existe des lampes multiéléments qui permettent l'analyse de plusieurs éléments. Dans ce cas, la cathode est constituée de plusieurs métaux purs. Cependant, l'intensité d'émission est la meilleure en utilisant une lampe monoélément. L'utilisation d'un type de lampe influe sur le rapport signal/bruit, donc sur la précision des analyses et la limite de détection [74].

3- Lampe à décharge sans électrode



Figure 31 : lampe à décharge [75].

Le principe général d'une lampe à décharge consiste à appliquer une différence de potentiel électrique (une tension électrique) entre deux électrodes, séparées par un milieu rempli de gaz. L'application de cette différence de potentiel provoque une ionisation du milieu gazeux, puis un courant électrique allant d'une électrode à l'autre. Les ions et les électrons se déplacent vers l'une ou l'autre électrode en fonction de leur polarité. Ces déplacements provoquent des « collisions » entre les électrons et les ions. Celles-ci excitent les ions ou

molécules de gaz. Ceux-ci contiennent un surplus d'énergie qui les rend instable et réémettent cette énergie sous forme de « rayonnement électromagnétique ». Une partie de celui-ci est visible par l'œil humain, on le qualifie alors de « lumière » [75].

Cette lampe est employée pour les éléments très volatils comme l'arsenic et le sélénium, les raies émises sont très intenses et fines

Celle-ci est constituée par d'un sel de l'élément que l'on veut doser incorporer dans une ampoule de quartz.

4- Source à laser monochromatique :

Elle permet une variation de la longueur d'onde en continu, avec une dispersion plus faible. Le rayonnement émis est monochromatique et intense (exemple : laser à CO₂)

3.3.1.2.2 - Les générateurs de vapeur atomique

Ils sont comme objectif de transformer les molécules en atomes libres et les regroupent dans une zone aussi étroite.

- Ensemble nébulisateur – brûleur

La vaporisation de l'élément peut s'effectuer avec un brûleur couplé à un nébulisateur.

Brûleur et flamme :

L'aérosol pénètre dans le brûleur puis dans la flamme. Au bout d'un certain parcours au seuil de la flamme, le solvant de la gouttelette est éliminé, il reste les sels ou particules solides qui sont alors fondus, vaporisés puis atomisés. La flamme air acétylène est la plus répandue et permet de réaliser le dosage de nombreux éléments. Sa température est de 2500°C environ [76].

Présente généralement une forme longitudinale pour augmenter la traversée de la flamme par le rayonnement.

Comme flamme on a :

Air-acétylène : T 2100°C

Protoxyde d'azote acétylène T 2950°C

Hydrogène argon T 800° - 1000° C

Le nébulisateur :

En SAA on utilise surtout

-Nébulisateur pneumatique : Le liquide aspiré est fragmenté en gouttelettes grâce aux turbulences liées à la vitesse du gaz vecteur.

-Nébulisateur à ultrasons : la solution à doser est soumise aux ultrasons et est ensuite acheminée vers la flamme par le gaz comburant.

- Atomisation électrothermique

Ce dispositif exclue le nébulisateur et la flamme, la nébulisation et l'atomisation étant alors réalisées dans un four à graphite L'atomisation électrothermique est réalisée par un système de fours.

Le tube constituant le four est à la fois système d'atomisation et cellule d'absorption.

3.3.1.2.3 - Sélecteur de longueur d'onde

Le fait d'avoir plusieurs radiations nous oblige d'utiliser un dispositif sélectionnant afin de sélectionner la raie de résonance.

Donc le monochromateur permet de séparer une radiation de longueur d'onde définie à partir d'un mélange complexe de radiations lumineuses

3.3.1.2.4 - Le système de lecture

On utilise le plus souvent des photomultiplicateurs

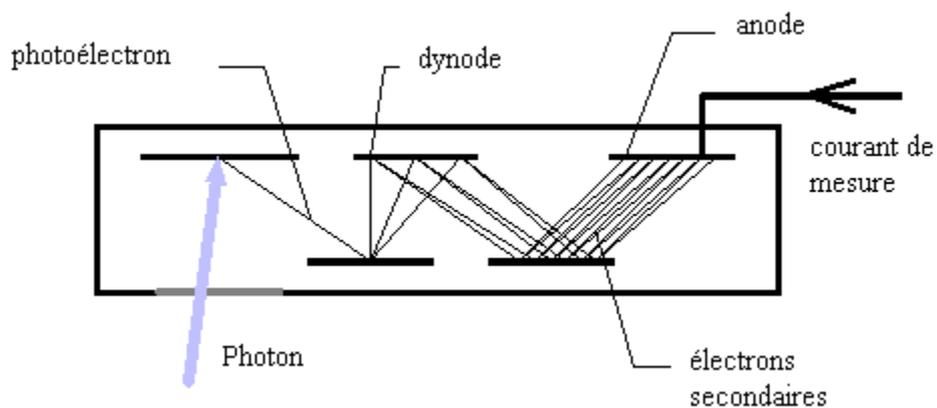


Figure 32 : Schéma d'un photomultiplicateur.

3.3.1.2.5 - Les différents types de spectrophotomètres

- Appareil mono faisceau
- Appareil à double faisceau

Le modulateur comporte des miroirs sur les secteurs non évidés de telle sorte que le faisceau issu de la source frappe le dispositif photosensible tantôt après traversée de la flamme, tantôt sans la traversée (faisceau de référence). Ce montage évite les fluctuations de la source.

- Appareil avec correcteur de fond spectral à lampe à deutérium

3.3.1.2.6 – Les dispositifs de correction des absorptions non spécifiques :

Ce sont des interférences spectrales, comme correcteurs on utilise

-Lampe au deutérium : correction par mesure alternative effectuée à partir de la raie de l'élément et de l'absorption non spécifique de la lampe au deutérium.



Figure 33 : photo d'une lampe à deutérium

-Effet Zeeman : Les raies d'émission ou d'absorption sont divisées en multiplets, qui sont symétriques par rapport à la fréquence de la raie pour laquelle le champ magnétique est nul.

En l'absence d'un champ magnétique, le récepteur reçoit totalement la radiation, on mesure donc l'absorbance totale. Puis lorsque le champ magnétique est établi, la mesure des composants symétriques de la radiation principale permet de déterminer l'absorption non spécifique.

3.3.1.2.7- Avantages

La technologie d'ET-AAS présente de nombreux avantages. Le chauffage rapide du four de graphite lors de l'étape d'atomisation produit une haute densité des atomes dans le parcours du faisceau de lumière, et par conséquent une haute sensibilité pour la plupart des métaux. Ceci explique les limites de détection 100 fois meilleures que celles obtenues avec l'AAS. La limite de détection pour l'ET-AAS est de l'ordre du $\mu\text{g/L}$. Elle permet d'analyser des micro volumes (injection de 5-100 μL), ce qui est non négligeable lorsque la quantité d'échantillon disponible est limitée [77].

3.3.1.2.8- Inconvénients

La mesure est mono élémentaire. Les interférences spectrales sont dues principalement à la matrice résiduelle constituée de différents éléments présents dans l'échantillon. Principalement des sels (majeurs par rapport aux traces), et des complexes organiques et inorganiques très stables, absorbants durant l'atomisation à la même longueur d'onde que le composé étudié. Pour corriger ces interférences, il est possible de décaler les signaux par effet Zeeman par application d'un fort champ magnétique. La durée de l'expérimentation est relativement longue, c'est pourquoi, l'emploi de l'ET-AAS est généralement restreint à la détection d'ultra traces [77].

3.3.2 Spectrométrie d'émission atomique :

L'émission atomique est le phénomène observé lorsqu'un rayonnement électromagnétique est émis par des atomes ou des ions excités qui retournent à l'état fondamental. Il en résulte un spectre de raies claires sur fond noir c'est le Spectre d'émission [78].

3.3.2.1 Principe :

La spectrométrie d'émission atomique c'est une méthode d'analyse spectrale, basée sur la mesure de l'intensité de l'émission de radiations photoniques spécifiques par des atomes ou des molécules.

A l'aide de toute source d'énergie, les atomes de l'échantillon sont excités et transférés dans l'état plasma. La lumière émise par le plasma de l'échantillon est focalisée sur la fente d'entrée du monochromateur. La lumière est ensuite décomposée spectralement et détectée photoélectriquement. Le spectre qui en résulte permet de tirer des conclusions fiables sur la quantité et la qualité en fonction de la position et de l'intensité des lignes individuelles [79].

L'intensité de chaque rayonnement caractéristique est une fonction bien déterminée de la concentration de l'atome correspondant dans la solution.

3.3.2.2 Appareillage

Le spectromètre d'émission comprend :

- un système d'introduction de l'échantillon : nébulisateur
- une source d'atomisation : plasma à couplage inductif
- un système optique comprenant :
 - un sélecteur de radiation
 - un détecteur
 - un système de mesure du courant amplifié.

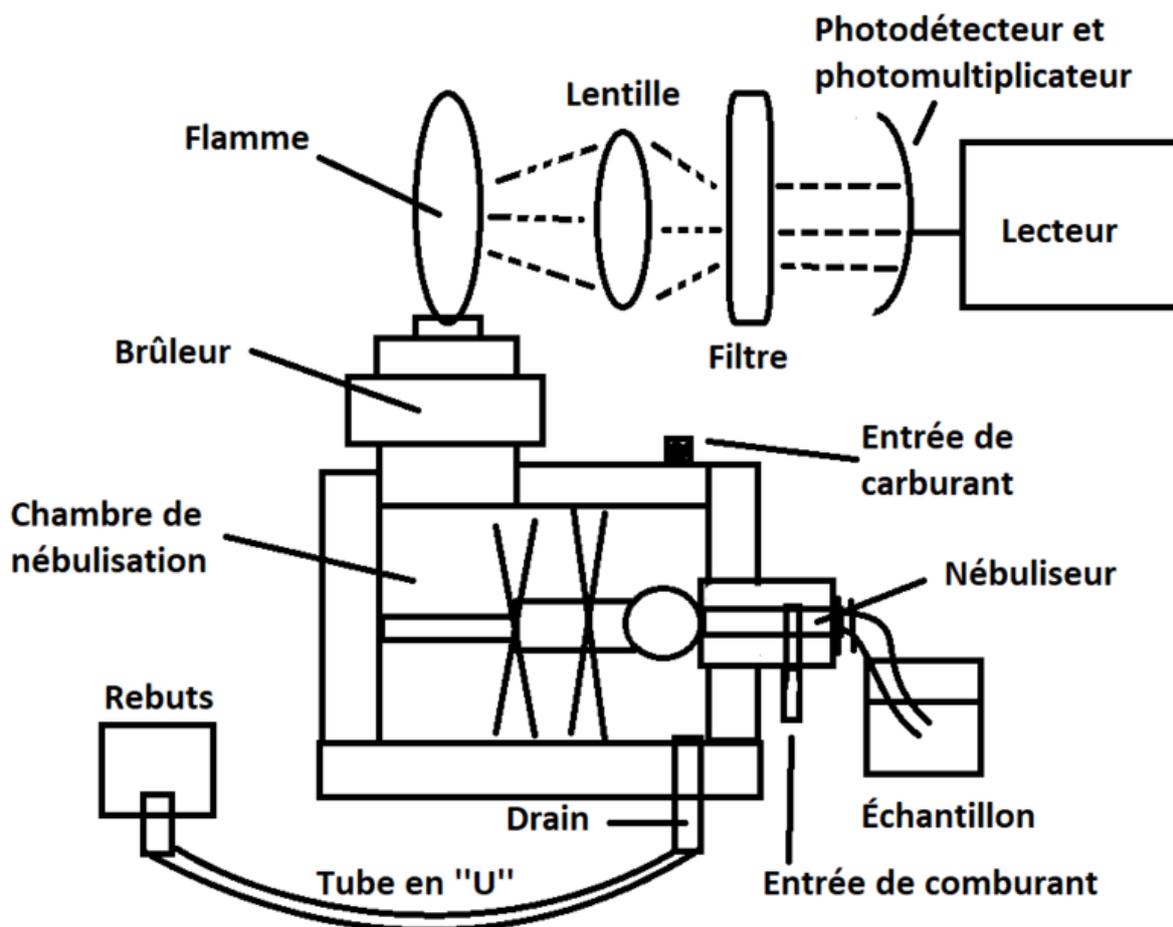


Figure 34 : appareillages utilisé en spectrométrie d'émission atomique.

❖ Nébulisateur :

C'est une enceinte, dans laquelle notre échantillon est transformé en aérosol.

Le diamètre des gouttes injectées et la régularité de l'injection sont très importants pour une bonne analyse d'où l'importance d'une bonne nébulisation qui doit être la plus fine et la plus régulière possible.

La solution nébulisée est introduite dans la flamme par le gaz comburant (généralement l'air).

Deux types de nébuliseurs sont utilisés :

❖ **Nébuliseur pneumatique** : c'est la plus utilisé

Le gaz comburant (air) est introduit par dépression, et aspire avec lui l'échantillon qui se mélange sous forme d'un fin brouillard, c'est l'effet Venturi.

❖ **Nébuliseur par ultrasons** :

La solution est placée sur une surface vibrante à fréquence ultrasonore ce qui permet d'obtenir des gouttelettes très fines.

❖ **Source d'atomisation** :

Les plasmas à couplage inductif (ICP) : les plus utilisés. Dans cette méthode d'excitation, l'échantillon traverse avec un gaz inerte comme l'hélium l'azote et surtout l'argon, un tube en quartz qui se trouve dans un champ électrique haute fréquence élevé [80]. Une décharge réalisée avec une différence de potentiel élevée déclenche l'ionisation du gaz et le rend conducteur. Il est donc soumis à un courant alternatif haute fréquence avec une différence de potentiel, qui fournit une énergie importante à l'argon ionisé. Cette énergie accumulée sert à ioniser d'autres formes d'argon ce qui entretient le plasma et à exciter les atomes étrangers éventuellement présents qui peuvent alors émettre leur spectre caractéristique. En général le courant d'argon porteur des éléments à doser circule dans un tube de quartz. Un ou deux courants d'argon, arrivant par des tubes concentriques, servent à créer le plasma et à isoler les éléments à étudier de l'air extérieur.

Avec l'énergie du plasma (6000 – 8000 K), 75 % des éléments du système périodique peuvent être excités ou ionisés [80].

❖ **Les avantages d'utilisations d'ICP**

- haute température atteinte qui permet d'exciter un très grand nombre d'éléments.
- la haute tension qui couplée au choix du milieu permettent une atomisation et une excitation facile des éléments qui forment des oxydes réfractaires.
- l'excitation qui se produisant en atmosphère inerte, évite ainsi les réactions parasites qu'on rencontre dans la flamme (formation d'oxydes et d'hydroxydes stables par exemples).

❖ **Les inconvénients sont :**

Par contre, l'inconvénient majeur réside dans les interférences spectrales, car de nombreux éléments sont portés à un haut niveau d'excitation et émettent un grand nombre de raies.

❖ **Le système optique :**

Son but est de détecter et analyser les radiations émises par les éléments de notre échantillon.

❖ **Sélecteur de radiation :** filtre, monochromateur à prisme ou réseau

Destiné à sélectionner les longueurs d'ondes et précisément la raie de résonance de l'élément recherché, car d'autres radiations sont également présentes.

❖ **Détecteur :** Cellule photoélectrique, photomultiplicateur.

On utilise le plus souvent des cellules à couche d'arrêt.

L'énergie lumineuse de la raie sélectionnée pour chaque élément est reçue par le détecteur qui transforme le rayonnement lumineux en signal électrique.

❖ **Système de mesure du courant amplifié** : Galvanomètre, enregistreur, etc...

Après traitement du signal et transformation en unités de concentration, le résultat est donné par affichage digital ou par impression.

3.3.3. Spectroscopie infrarouge

La spectroscopie infrarouge c'est une technique majeure de caractérisation et l'identification des molécules organiques.

C'est une méthode rapide et sensible et elle a une utilisation simple et son instrument est accessible à la pluparts des laboratoires de cout n'est pas trop chère.

3.3.3.1 Principes de la spectroscopie infra-rouge

La spectroscopie infrarouge est un moyen de diagnostic permettant de déterminer la nature des liaisons chimiques présentes dans une molécule. En effet, l'expérience montre que certaines fréquences de vibration, dites « fréquences de groupe », sont caractéristiques de la présence d'un groupement chimique dans la molécule étudiée. La théorie mécanique des vibrations permet de prévoir l'existence des fréquences de groupe à partir des ordres de grandeur des différents types de constante de force. Ainsi, la spectroscopie infrarouge est un très puissant moyen de caractérisation pour identifier des groupements moléculaires et obtenir de nombreuses informations microscopiques sur leur conformation et leurs éventuelles interactions [81].

La spectrométrie infrarouge repose sur les interactions entre la matière et la lumière absorption : excitation après absorption d'un quanta d'énergie $h \nu$, transitions entre deux niveaux d'énergie [82], on mesure la diminution de l'intensité du rayonnement qui traverse un échantillon en fonction de la longueur d'onde.

Le rayonnement infrarouge délivre suffisamment d'énergie afin de stimuler les vibrations moléculaires à des niveaux d'énergie supérieurs.

Mettant en évidence la présence de liaisons entre les atomes, la spectrométrie infrarouge s'utilise principalement pour l'analyse qualitative d'une molécule.

La majorité des applications se situe entre 2,5 et 15 μm soit en nombre d'ondes de 4000 cm^{-1} à 670 cm^{-1} .

Dans les molécules, les liaisons vibrent à une fréquence bien déterminée qui dépend des atomes de la liaison mais aussi bien que l'environnement de la liaison. Pour une fréquence donnée, ces liaisons rentrent en résonance : l'énergie apportée est alors consommée : les molécules absorbent et la **transmission** diminue. Chaque pic (chaque absorption) est donc caractéristique d'un certain type de liaison.

3.3.3.2 Appareillage :

L'instrument de la spectroscopie infrarouge se constitue :

Dans le cas de spectroscopie IR à balayage :

Source, porte échantillon, système dispersif et détecteur.

Et spectroscopie IR à transformée de Fourier :

Source, interféromètre de Michelson, échantillon, détecteur.

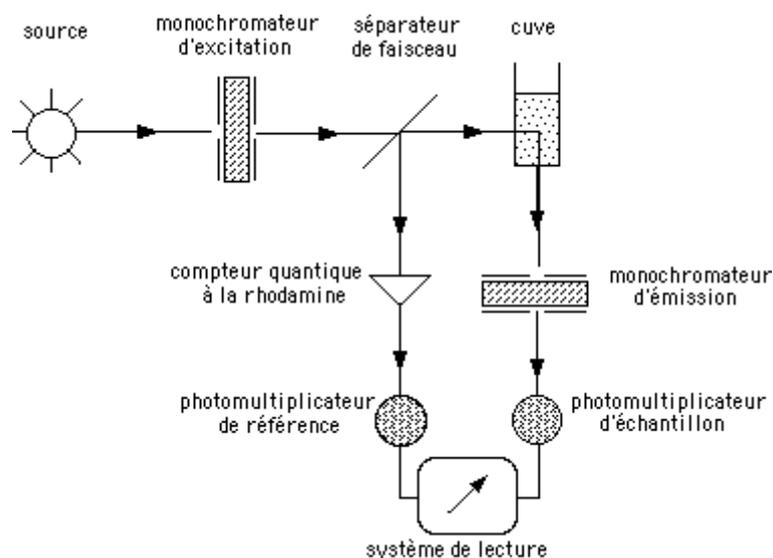


Figure 35 : Les différents constituants de l'appareil spectroscopie IR

❖ Spectromètre à balayage « double faisceau »

Ce montage donne directement le spectre de l'échantillon corrigé du fond d'absorption, par la mesure en alternance, pour chaque longueur d'onde, du rapport des intensités transmises suivant deux parcours optiques distincts mais très semblables entre eux, dont l'un sert de voie de référence et l'autre de voie de mesure.

Le rayonnement de la source est dédoublé par un jeu de miroirs. Pour chaque intervalle de longueur d'onde, défini par le monochromateur, le flux ayant suivi alternativement chacune des deux voies, par effet d'un miroir tournant au rythme d'une dizaine de fois par seconde, arrive sur le détecteur.

❖ Spectroscopie IR à transformée de Fourier

Un spectromètre FTIR permet de collecter simultanément les données spectrales sur un spectre large. Ce qui lui confère un avantage par rapport au spectromètre à dispersion qui ne peuvent mesurer l'intensité que dans une gamme réduite de longueurs d'onde à un instant donné.

❖ Source lumineuses de radiation

Source thermique : la radiation se crée par échauffement d'un filament métallique parcouru par un champ électrique.

Exemple de source :



Figure 36 : Filament de Globar [83].

C'est une baguette de carbure de silicium SiC, de diamètre : 5 à 7 mm et longueur : 4 à 7 cm et la température de fonctionnement : $\approx 1300\text{ }^{\circ}\text{C}$



Figure 37 : Filament de Nichrome [84]

il est Constitué de nickel et de chrome avec un peu de fer et de manganèse et il est trop résistant sur une plaque réfractaire et isolante.



Figure 38 : Lampes en quartz-tungstène-halogène (QTH)

Verre de silice (quartz) qui constitue l'enveloppe de l'ampoule supporte les hautes températures l'ampoule en quartz contenant un filament en tungstène et un halogène (iode par ex.)[84]

Diodes émettrices de lumière (DEL) : La DEL produit de la lumière par électroluminescence dans un semi-conducteur, solide, presque insensible aux chocs.

Détecteur : mesure la quantité d'énergie pour chaque fréquence qui passe à travers l'échantillon d'où un spectre est produit, le tracé de l'intensité en fonction du nombre d'onde.

Portes échantillon : permet d'accueillir notre échantillon

❖ L'interféromètre

Son rôle est de mesurer des longueurs d'onde par production d'interférences

Interféromètre de Michelson (1891) est inventé par Albert A. Michelson Prix Nobel en 1907.

3.3.4. Spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse est une technique d'analyse qui sert à déterminer les masses moléculaires des composés analysés ainsi que les identifier et les quantifier. Elle est basée sur la séparation et la détection d'ions formés dans une source d'ionisation ou dans une chambre de collision. Ces ions proviennent de la molécule à analyser. Dans le cas de méthodes d'ionisation dites « douces », l'ion moléculaire ou pseudo moléculaire formé peut être consécutif à l'addition d'un ion (H^+ par exemple) ou à la soustraction d'un électron à la molécule [85].

3.3.4.1 Principe

Un composé organique à analyser est introduit dans le spectromètre de masse est **ionisé** par **bombardement électronique à 70eV**. L'ion obtenu, appelé **ion moléculaire**, permet à déterminer **la masse molaire** du composé. Il peut y avoir **des ruptures des liaisons chimiques** au sein de l'ion moléculaire, formant aussi bien **des ions fragments** caractéristiques, et puisque cette dissociation éventuelle ne se fait pas au hasard, mais selon des mécanismes bien déterminés. Ces ions fragments sont ensuite séparés en fonction de leur rapport masse/charge par l'application d'un champ magnétique et/ou électronique, puis collectés par un détecteur. L'ensemble de détection de ces ions fragments constitue le spectre de masse, et la lecture permet l'identification de la structure moléculaire [86].

3.3.4.2 Appareillage

Un spectromètre de masse se constitue :

- Un système d'introduction de l'échantillon
- Une source d'ions ou chambre d'ionisation
- Un analyseur qui sépare les ions en fonction de leur masse et de leur charge
- Un détecteur qui permet de détecter les ions sortant de l'analyseur.

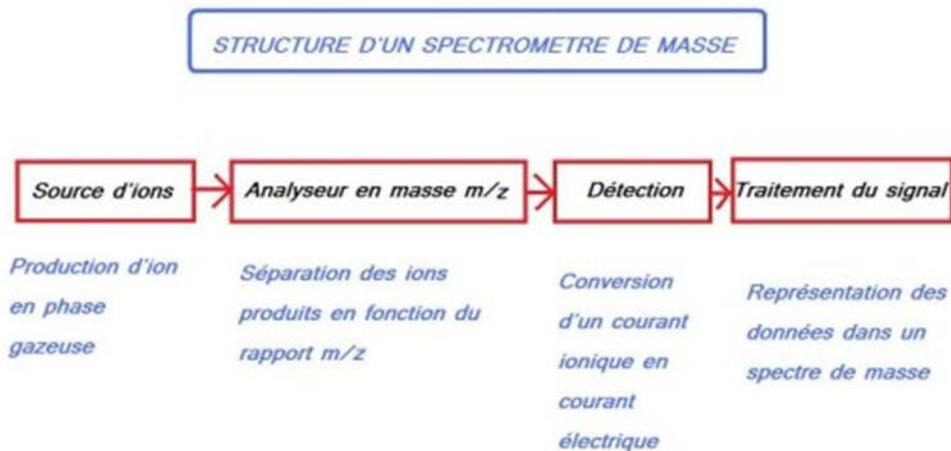


Figure 39 : spectrométrie de masse.

La première étape consiste à introduire notre échantillon, mais cela dépend de l'état physique de l'échantillon, on utilise **un ballon chauffé mise en relation avec la source d'ion** en cas de gaz ou de liquide volatile. Et pour les solide, ça sera **une canne d'introduction possédant un filament** sur lequel on déposera l'échantillon préalablement dissout dans un solvant organique.

On peut introduire l'échantillon par un système séparatif comme la **chromatographie en phase gazeuse, liquide, ou électrophorèse capillaire** couplée à la spectrométrie de masse.

La deuxième étape sert à vaporiser les molécules et les ioniser. Une source d'ionisation peut être utilisée soit en mode positif pour étudier les ions positifs, soit en mode négatif pour étudier les ions négatifs. Comme source on trouve

**L'impact électronique (EI-MS) , La ionisation chimique (CI-MS) ,
L'électrospray,**

La spectrométrie de masse à ions secondaires avec cible liquide (L.S.I.M.S),

Le bombardement par atomes rapides (F.A.B), La désorption-ionisation laser assistée par matrice (MALDI).

La troisième étape consiste à l'analyse, on trouve :

L'analyseur quadripolaire qui se constitue de 4 barres parallèles ayant idéalement une section hyperbolique, disposées symétriquement autour d'un axe.

L'analyseur à piégeage d'ions est un quadripôle à 3 dimensions constitué d'une électrode annulaire et de 2 électrodes "chapeaux" de sections hyperboliques.

L'analyseur à temps de vol (time-of-flight) est un système qui utilise la désintégration d'atomes de ^{252}Cf .

C'est une méthode versatile, sensible et elle a une capacité de se coupler à la méthode séparative, mais elle est limitée car la mesure de masse ne peut être effectuée que sur la molécule isolée, il est donc obligatoire de transformer un échantillon généralement liquide ou solide en gaz dilué.

3.3.5 La résonance magnétique nucléaire (RMN)

La résonance magnétique nucléaire (RMN) est basée sur la mesure de l'absorption de la radiation de radiofréquence (RF) par un noyau atomique dans un champ magnétique fort [87].

L'intérêt principal de la RMN en chimie est de déterminer la structure d'une molécule. Mais avec le développement des RMN de paillasse, le dosage est devenu une application très intéressante [88].

3.3.5.1 Principe :

La **spectroscopie RMN** consiste à observer les transitions entre 2 niveaux d'énergie très proches d'un noyau soumis à un champ magnétique [88]. Concerne essentiellement les noyaux avec un nombre de spin = 1/2 (1H, 13C, 19F, 31P) [89].

Le principe consiste à utiliser un champ magnétique pour orienter les "spins" nucléaires des atomes, à exciter ces spins par une onde radio à la fréquence de résonance, ce qui fait basculer certains spins, après l'excitation, les spins reviennent à leur état initial, mais ceci n'est pas instantané : cette relaxation dépend d'une composante appelée spin-réseau (interaction des spins avec les autres atomes) et d'une composante spin-spin (interaction entre les spins) [89]. La mesure RMN consiste à mesurer la différence d'énergie entre les différents états d'énergie du système de spin. Pour ce faire, il faut provoquer des transitions entre ces différents états, c'est à dire sortir le système de spins de son équilibre [90].

3.3.5.2 Appareillage :

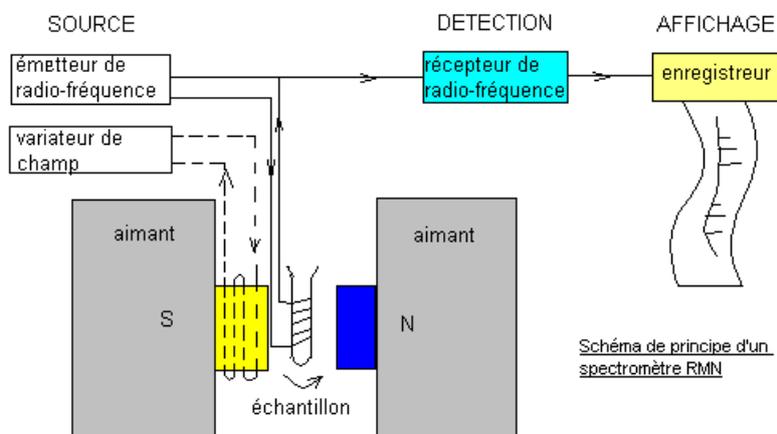


Figure 40 : Schéma de principe d'une spectrométrie RMN.

Ce champ magnétique est créé par une bobine supraconductrice parcourue par un champ électrique. L'échantillon est placé au centre de la bobine. Afin de permettre à la bobine d'être supraconductrice, celui-là est plongée dans un bain d'hélium. La bobine dégageant de la chaleur, l'hélium a tendance à s'évaporer. Pour ralentir l'évaporation et maintenir le système à une température constante, la RMN possède une double enveloppe (à la manière d'un thermos) dans lequel est injecté de l'azote liquide (environ -196°C).

Plus l'intensité est élevée plus les spectres obtenus sont détaillés et l'identification de composés en faibles quantités peut-être réalisée. Les appareils RMN sont très imposants en comparaison à d'autres appareillages de chimie analytique. En effet, il faut protéger la bobine de la chaleur extérieure, et surtout l'opérateur du champ magnétique intense [91].



Validation d'une méthode analytique

VII. VALIDATION D'UNE METHODE ANALYTIQUE :

La validation d'une méthode de chimie analytique est primordiale, et passe par l'estimation de l'erreur de justesse, ou biais systématique, et de l'erreur aléatoire, qu'il faut combiner pour vérifier si la méthode remplit les objectifs qui lui ont été assignés [92].

Le but de la validation d'une méthode d'analyse est de savoir qu'elle correspond à l'usage pour lequel elle est prévue [93].

C'est l'ensemble des opérations nécessaires pour prouver que le protocole est suffisamment juste et fiable afin d'avoir confiance dans les résultats fournis et ceci pour un usage déterminé [93].

On trouve comme référentiels [93] :

ISO 5725 : 1994 - Exactitude et fidélité d'une méthode de mesure.

ISO 17025 : 2005 - Prescriptions générales concernant la compétence des laboratoires d'essai et d'étalonnage.

ICH : International Conference on Harmonisation : document écrit, où on trouve la description détaillée des différentes opérations nécessaires pour effectuer l'analyse de la substance à examiner

Q2 (R1) 2005 : validation de test des procédures analytiques

FDA guidance for industry.

Eurachem

Les critères de validation d'une méthode d'analyse [93] :

Spécificité, Linéarité, Exactitude, Fidélité, Intervalle d'application, Limite de détection, Limite de quantification, Robustesse.

- **Spécificité**

La capacité de la méthode de permettre une évaluation non équivoque de l'analyte en présence de composants qui sont susceptibles d'être présents.

- **Linéarité**

Capacité dans un intervalle donné d'obtenir des résultats de dosage directement proportionnels à la concentration ou à la quantité d'analyte dans l'échantillon.

- **Exactitude (justesse)**

Etroitesse entre la valeur trouvée et la valeur acceptée soit comme valeur conventionnellement vraie soit comme valeur de référence.

- **Fidélité**

Etroitesse entre une série de mesures obtenues dans des conditions prescrites à partir de prises d'essais multiples provenant d'un même échantillon homogène.

- **Fidélité, répétabilité**

La répétabilité exprime la fidélité évaluée dans des conditions opératoires identiques et dans un intervalle de temps court.

- **Fidélité, fidélité intermédiaire**

La fidélité intermédiaire exprime la variabilité intra-laboratoire : jours différents, analystes différents, équipements différents, etc...

- **Fidélité, reproductibilité**

La reproductibilité exprime la variabilité inter laboratoires (études collaboratives) habituellement appliquées à la standardisation de la méthodologie.

- **Intervalle de validité Range**

Intervalle compris entre la concentration (quantité) la plus élevée et la plus faible de l'échantillon dans lequel il a été démontré que la méthode d'analyse présente une fidélité, une exactitude et une linéarité satisfaisante."

- **Limite de détection**

La limite de détection d'une méthode d'analyse est la plus petite quantité d'analyte qui peut être détectée mais pas nécessairement quantifiée comme une valeur exacte.

- **Limite de quantification**

Quantité la plus faible d'analyte dans un échantillon qui peut être déterminée quantitativement avec une fidélité et une exactitude appropriée.

- **Robustesse**

Capacité du protocole qu'il ne s'affecte pas, par des variations faibles mais délibérément introduites dans les paramètres de la méthode, fournit une indication sur sa fiabilité dans des conditions normales d'utilisation.

Partie pratique



Introduction

I INTRODUCTION :

Durant cette partie nous allons voir un exemple de recherche toxicologique large (Mode Full Scan) et ciblée (par mode MRM) de deux échantillons : un prélèvement sérique et un autre urinaire. Il s'agit des échantillons de contrôles externes « Probioqual » ; donc aucune autorisation de comité d'éthique n'est nécessaire.

Les renseignements cliniques pour les deux échantillons sont les suivants :

- Échantillon sérique : Monsieur X, 85 ans, est transféré en réanimation pour coma. Le bilan biologique montre une insuffisance rénale aiguë associée à une acidose lactique.
- Échantillon urinaire : Madame X, 35 ans, se présente aux urgences pour ingestion d'une boîte de Lexomil®. Malgré son état peu inquiétant mais devant des propos incohérents un criblage toxicologique urinaire est demandé.



Matériel et méthode

II MATERIEL ET METHODE :

1. Liste des réactifs :

- Tétra borate de sodium
- Diethylether
- Dichlorométhan
- Héxane
- Formiate d'ammonium
- Acétonitrile (qualité spectrométrie de masse)
- Méthanol (qualité HPLC)
- Eau ultrapure

2. Matériel commun :

- Centrifugeuse de tube type eppendorf
- Bloc chauffant pour séchage avec arrivée de gaz inerte (Azote)
- pH mètre calibré
- Système de production d'eau ultrapure (Résistivité : 18,2 M Ω .cm à 25°C, Conductivité : 0,055 μ S/cm à 25°C) produite par un système Milli-Q (Millipore ; France)

3. Système chromatographique :

Il s'agit d'un système de chromatographie en phase liquide ultraperformance (Aquity UPLC, Waters). Le système est composé de :

- Une pompe binaire fonctionnant à des pressions arrivant à 15000 PSI,

- D'un injecteur automatique à 96 positions et une boucle d'injection de 50 μ L.
- Un four à colonne pouvant atteindre thermoréglable.

Les conditions analytiques du système chromatographique sont les suivantes :

- Système chromatographique : (ACQUITY UPLC®; Waters)
- Colonne: Acquity UPLC® HSS C18 1,8 μ m 2,1x150 mm (Waters).
- Température de la colonne : 50°C
- Température de l'injecteur : 10°C
- Débit : 0,55 ml/min en mode gradient
- Volume d'injection : 10 μ L

Au cours de l'analyse, la séparation se fait par deux phases mobiles A et B dont la composition est la suivante :

- Phase A : 5mM (325mg/l) de formiate d'ammonium ajusté à pH=3 par acide formique (pH mètre).
- Phase B : Acétonitrile avec 0,1% (v/v) de l'acide formique.

Le nettoyage de la cellule d'injection se fait par 20% de méthanol dans l'eau Milli-Q (v/v)

4 Spectromètre de masse :

Il s'agit d'un spectromètre de masse à triple quadripôles (Acquity TQD, Waters) équipé d'une interface d'ionisation électrospray. Les conditions opératoires sont les suivantes :

- Tension de capillaire = 3 kV
- Tension du cône extracteur : 5V
- Température de la source = 150°C
- Température de la désolvatation = 400°C
- Débit du gaz (Azote) pour la désolvatation = 800 L/h
- Débit du gaz (Azote) pour le cône = 20 L/h

Pour les transitions MRM les tensions de cône (en V) et l'énergie de collision (en V) ont été optimisées pour chaque produit recherché.

Pour la recherche large (Full Scan), spectromètre de masse a été paramétré pour fonctionner en mode balayage entre la masse (m/z) 80 et 650 en mode electrospray négatif à une tension de cône = 20V et en mode electrospray positif à plusieurs tensions de cône (20, 35, 50, 65, 80 et 95 V).

Le système UPLC-TQD (Figure 1) est piloté par le logiciel MassLynx (version 4.1) et les traitements de données ont été réalisés par le logiciel TargetLynx pour la recherche ciblé (mode MRM) et par le logiciel ChromaLynx pour la recherche large (mode Full Scan).



Figure 41 : du couplage UPLC-TQD utilisé.

5 Préparation des échantillons

5.1 Préparation des réactifs d'extraction :

- Tampon borate : Dans un flacon de 50 mL mettre 40 mL d'eau Milli-Q et ajouter du borate de sodium (poudre) jusqu'à saturation (avoir un lit de poudre blanche au fond du flacon).
- Solvant d'extraction : A préparer chaque jour (12,5 mL d'ether + 7,5 mL de dichlorométhan + 5 mL d'hexane).

5.2 Procédure d'extraction

- Mettre 200 μ L de prélèvement biologique dans un tube Eppendorf de 2 mL
- Ajouter 125 μ L de tampon borate saturé ou de formiate d'ammonium (pH=3)
- Vortexer pendant 15 secondes
- Ajouter 750 μ L de solvant d'extraction
- Vortexer pendant 60 secondes
- Centrifuger à 13000 rpm (T° ambiante) pendant 5min
- Transférer le maximum de la phase supérieure dans un vial d'injection pour UPLC et évaporer la phase récupérée sous courant d'azote à 50°C
- Ajouter à l'extrait sec par 250 μ L de tampon formiate d'ammonium pH=3 (phase mobile A)
- Mettre dans l'injecteur automatique dans l'emplacement choisi et lancer l'analyse.



Résultats

III RESULTATS :

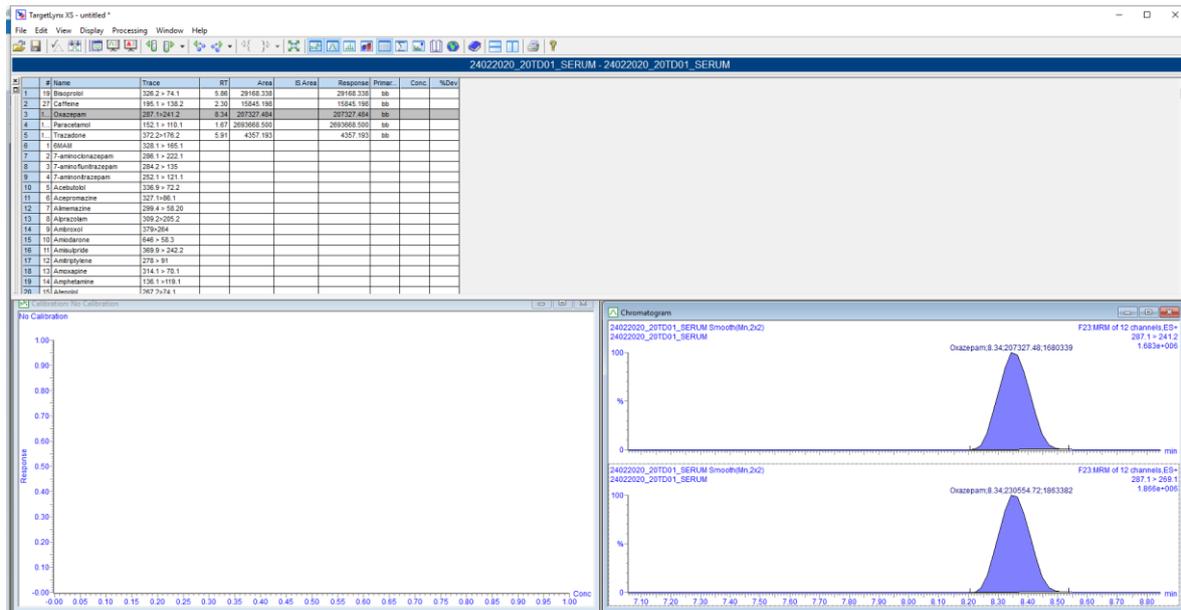
1 Résultat de l'échantillon sérique :

1.1 Recherche ciblée (mode MRM)

La recherche ciblée sur l'échantillon sérique a révélé les molécules suivantes :

Bisoprolol, Oxazépam, Paracétamol, Caféine et Trazodone.

Le dosage du paracétamol réalisé par méthode immunologique (Cobas Integra 400, Roche) a révélé une concentration plasmatique à 90,7 mg/L.



1.2 Recherche large (mode Full Scan)

La recherche non ciblée sur l'échantillon sérique a révélé les molécules suivantes :

Paracétamol, Acide salicylique et Oxazépam.

Le dosage de l'acide salicylique réalisé par méthode immunologique (Cobas Integra 400, Roche) a révélé une concentration plasmatique à 131 mg/L.

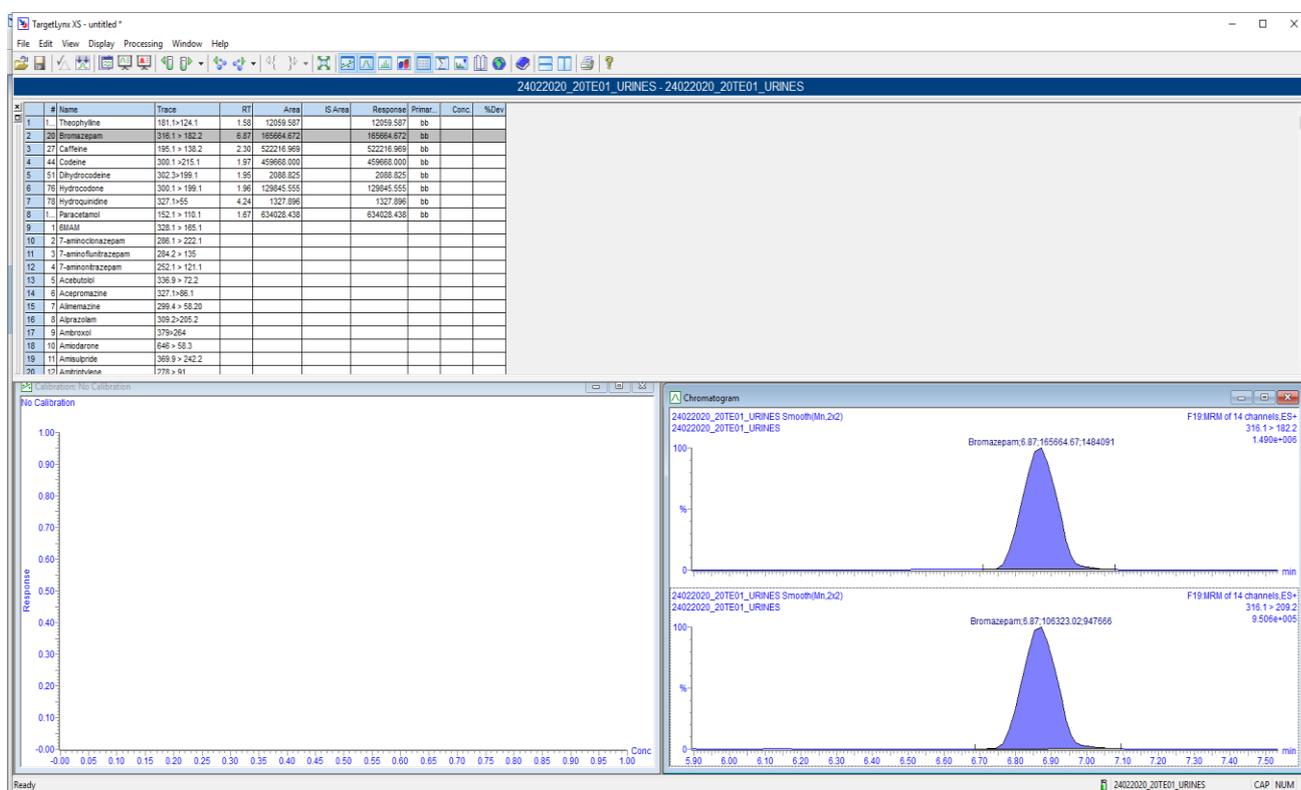


2 Résultat de l'échantillon urinaire :

2.1 Résultat de la recherche ciblée (mode MRM)

La recherche ciblée sur l'échantillon urinaire a révélé les molécules suivantes :

Bromazépam, Codéine, Dihydrocodéine, Hydrocodone, Paracétamol, Caféine et Théophylline



2.2 Recherche large (mode Full Scan)

La recherche non ciblée sur l'échantillon urinaire a révélé les molécules suivantes :

Bromazépam, Codéine, Oxamémazine, Hydrocodone, Phénobarbital, Paracétamol, Caféine et Théophylline





IV DISCUSSION :

Dans cette partie, nous avons essayé de donner un exemple d'une recherche toxicologie type moyennant le couplage chromatographie liquide ultraperformance couplée à la spectrométrie de masse comme technique d'investigation. Il s'agit d'une technique très sensible et très spécifique pour ce genre de pratique à condition qu'elle soit disponible à cause de son prix.

Nous avons analysé deux échantillons, sérum et urine de deux patients différents avec des présentations cliniques différentes.

Pour le sérum, il s'agit d'un monsieur de 85 ans admis en coma à la réanimation. Son bilan biologique a montré une insuffisance rénale aiguë associée à une acidose lactique. Devant ce tableau clinique une recherche toxicologique large a été demandée. Après une extraction large à double pH, le toxicologue analyste a opté pour un couplage UPLC-TQD avec deux modes : La recherche ciblée (MRM) et recherche non ciblée (Full Scan).

La recherche ciblée a révélé les molécules suivantes : Bisoprolol, Oxazéпам, Paracétamol, Caféine et Trazodone.

Alors que la recherche non ciblée sur le même extrait a révélé les molécules suivantes : Paracétamol, Acide salicylique et Oxazéпам.

Devant la détection du paracétamol et de l'acide salicylique, un dosage par méthode immunologique (Cobas Integra 400, Roche) a été réalisé pour les deux molécules et a révélé des concentrations sériques à 90,7 mg/L et 131 mg/L respectivement pour le paracétamol et l'acide salicylique. Ces résultats ne peuvent pas être interprétés de façon précise par manque de renseignements cliniques concernant le moment de la prise, nous pouvons conseiller par ailleurs

le médecin traitant de faire un deuxième prélèvement pour déterminer les demi-vies d'élimination de ces deux toxiques et prédire l'évolution de l'intoxication. D'autant plus que le patient souffre d'une insuffisance rénale aiguë. L'acidose lactique dont souffre le patient peut être expliquée par l'intoxication par les salicylés. Le coma peut être expliqué par la présence de l'Oxazépam et la Trazodone.

Pour le prélèvement urinaire, il s'agit d'une dame de 35 ans qui s'est présentée aux urgences pour ingestion d'une boîte de Lexomil®. Malgré son état peu inquiétant mais devant des propos incohérents une analyse toxicologique large a été demandée. La même méthodologie analytique a été suivie pour ce prélèvement ; ainsi après une extraction large à double pH, on a procédé à une analyse par un couplage UPLC-TQD avec deux modes : La recherche ciblée (MRM) et recherche non ciblée (Full Scan).

La recherche ciblée a révélé la présence du Bromazépam, Codéine, Dihydrocodéine, Hydrocodone, Paracétamol, Caféine et Théophylline. La recherche non ciblée a révélé quant à elle, la présence du Bromazépam, Codéine, Oxamémazine, Hydrocodone, Phénobarbital, Paracétamol, Caféine et Théophylline. Ces analyses ont confirmé les dires de la patiente par l'absorption du Bromazépam mais avec la présence d'autres psychotropes comme le phénobarbital et les opiacés ce qui peut expliquer ces propos incohérents.

Les résultats des deux échantillons ont montré des différences de détection entre les deux modes (MRM et Full Scan). Par exemple pour le prélèvement sérique l'acide salicylique n'a été détecté que par la recherche large alors que la recherche ciblée a détecté en plus le bisoprolol et la trazodone. Pour le prélèvement urinaire la recherche large a détecté l'Oxamémazine et le

phénobarbital, non détectés dans la recherche ciblée mais cette dernière a détecté la dihydrocodéine non détectée dans le premier mode (Tableau). Ces différences sont expliquées par le fait que la recherche ciblée est paramétrée pour détecter une liste de xénobiotique (plus de 200 molécules) les plus incriminées dans les intoxications (C'est plutôt un dépistage toxicologique large). Cette liste ne comprend pas les produits acides comme l'acide salicylique et le phénobarbital qui nécessitent des conditions d'analyse particulières en mode MRM (Acquisition en electrospray négatif). Cela explique la non détection des produits acides dans le mode recherche ciblée. C'est le cas aussi de l'Oxamémazine qui n'est pas recherchée par ce mode. Par le mode MRM est beaucoup plus sensible que le mode recherche large et peut détecter des toxiques à l'état de trace comme c'est le cas de la Dihydrocodéine dans les urines et le Bisoprolol dans le sérum. Le mode de recherche non ciblée permet de voir plus large en identifiant un nombre plus élevé de molécules et dans différentes conditions ; cependant ce mode reste moins sensible que le premier. Dans la pratique, ces deux modes sont complémentaires et sont souvent utilisés en tandem pour répondre à une demande de recherche large de toxique. Les spectromètres de masse de la nouvelle génération arrivent à réaliser les deux modes « Full Scan » et « MRM » en même temps et lors de la même analyse, ce qui représente une avancée dans la pratique toxicologique.

Tableau X: Molécules détectées dans les deux échantillons par les deux modes de recherche.

	Sérum	Urines
Recherche ciblée	Bisoprolol, Oxazépam, Paracétamol, Trazodone,	Bromazépam, Codéine, Dihydrocodéine, Hydrocodone, Paracétamol,
Recherche large	Acide salicylique Oxazépam, Paracétamol.	Bromazépam, Codéine, Hydrocodone Oxamémazine, Paracétamol, Phénobarbital,

Pour conclure, on peut dire que la chromatographie liquide à haut ou à ultraperformance couplée à la spectrométrie de masse représente un outil de choix pour les analyses toxicologiques grâce à sa sensibilité et sa spécificité. Les systèmes de nouvelles générations offrent des performances remarquables en couplant plusieurs modes d'analyse en même temps ce qui permet un gain de temps considérable. En fin, les spectromètres de masse à haute résolution (analyseurs en temps de vol, parmi d'autres) commencent faire leur place dans les investigations toxicologiques surtout pour les toxiques qui ont des masses moléculaires identiques ou très proches. Cependant toutes ces techniques nécessitent des budgets d'acquisition et de maintenance considérables et un personnel qualifié mais leur utilité dans nos hôpitaux est indiscutable.



Conclusion générale

Ce travail de thèse s'est intéressé à étudier et à décrire les différentes méthodes d'analyse utilisées en toxicologie, avec plus de détails sur toute la démarche analytique.

A l'issue de cette thèse, on peut tirer les points suivants :

- La prise en charge d'une intoxication c'est une approche pluridisciplinaire initiée par un diagnostic clinique et paraclinique, biologique, et en fin toxicologique.
- C'est indispensable que le clinicien, le biologiste et le toxicologue restent en contact, bien évidemment pour établir une liste d'analyse toxicologique.
- Les prélèvements doivent être faits dès l'admission.
- On procède à un traitement d'échantillon selon la situation.
- Il existe plusieurs méthodes analytiques dont le choix est fait en fonction du matériel disponible, et de la nature de la demande.
- Le laboratoire de toxicologie apporte au clinicien une aide précieuse, en confirmant le diagnostic ou en écartant une intoxication.

Malheureusement et jusqu'à maintenant il n'existe pas un laboratoire de toxicologie clinique au Maroc.

Afin de prendre en charge des cas d'intoxications il y a une nécessité d'élaboration d'un laboratoire de toxicologie et qu'il soit équipé, bien évidemment avec toutes les nouvelles méthodes d'analyse en toxicologie.



Résumés

RÉSUMÉ :

Titre : Méthodes d'analyse en toxicologie

Auteur : Jihade ELKAMEL

Mots clefs : Intoxication, Toxique, Méthodes, Analyse, Laboratoire

Depuis 2009, une augmentation significative et constante des notifications des cas d'intoxications a été observée.

L'incidence des cas est passée de 23,1 pour 100 000 habitants en 2010 à 29,5 pour 100 000 habitants en 2018.

La prise en charge des intoxications, est une approche pluridisciplinaire, repose sur plusieurs volets, le volet clinique, le volet biologique et le volet toxicologique.

Les méthodes d'analyse en toxicologie jouent un rôle très important, bien évidemment dans l'évaluation de la gravité ou du pronostic, les situations de l'indication d'une thérapeutique spécifique, sont liées aux résultats des investigations toxicologiques.

Il existe des méthodes d'analyse chimiques, des méthodes immunologiques, des méthodes séparatives et des méthodes spectrales.

Pourtant les possibilités d'identification et de quantification de chaque toxique vont dépendre des méthodes disponibles dans le laboratoire de toxicologie.

Beaucoup d'efforts doivent être encore fournis au Maroc, afin de construire des laboratoires de pharmacotoxicologie performants à l'échelle nationale et régionale.

ABSTRACT:

Title : Analytical methods in toxicology

Author : Jihade ELKAMEL

keywords : Intoxication, Toxic, Methods, Analysis, Laboratory

Since 2009, a significant and constant number increase in notifications of poisoning has been observed.

The incidence of cases fell from 23.1 per 100,000 inhabitants in 2010 to 29.5 per 100,000 inhabitants in 2018.

The management of poisoning is a multidisciplinary approach, based on several components, the clinical component, the biological component and the toxicological component.

The methods of analysis in toxicology play a very important role, obviously in the evaluation of the severity or the prognosis, the situations of specific therapeutic indication, all that are linked to the results of toxicological surveys.

There are chemical analysis methods, immunological methods, separative methods and spectral methods.

However, the possibilities of identifying and quantifying each toxicant will depend on the methods available in the toxicology laboratory.

Much effort must still be made in Morocco in order to build an efficient pharmacotoxicology laboratories at national and regional level.

ملخص

العنوان: الطرق التحليلية في علم السموم

المؤلف: جهاد الكامل

الكلمات المفتاحية: التسمم ، سام ، الطريقة ، التحليل ، المختبر

منذ عام 2009، هناك زيادة كبيرة ومستمرة في الإشعارات المتعلقة بحالات التسمم وارتفع معدل حدوث الحالات من 23.1 لكل 100,000 نسمة في عام 2010 إلى 29.5 لكل 100,000 ساكن في 2018.

تعتبر إدارة التسمم نهجًا متعدد التخصصات، يعتمد على عدة أسس، أساس سريري، أساس بيولوجي وأساس متعلق بعلم السموم تلعب طرق التحليل في علم السموم دورًا مهمًا للغاية، في تقييم الشدة أو التكهن، وترتبط حالات وصف علاج معين بنتائج التحقيقات السمية هناك طرق تحليل كيميائية وطرق مناعية وطرق فصل وطرق طيفية ومع ذلك، فإن إمكانيات تحديد وقياس كل مادة سامة تعتمد على الطرق المتاحة في مختبر السموم لا يزال يتعين بذل الكثير من الجهد في المغرب من أجل بناء مختبرات السموم الدوائية الفعالة على المستويين الوطني والإقليمي



Référence :

- [1] **Irissou Louis.** Brève histoire de la toxicologie : M. le Professeur Roger Douris, Leçon de réouverture du cours de Toxicologie à la Faculté de Pharmacie de Nancy, 7 mars 1946. In: Revue d'histoire de la pharmacie, 35^e année, n°117, 1947. pp. 163-164.
- [2] file:///C:/Users/USER/Downloads/ChapitreI_Gnralits.pdf, consulté le 14/05/2020
- [3] **Viau C, Tardif R** (2003) Toxicologie, In : Environnement et santé publique - Fondements et pratiques, pp. 119-143, consulté le 4/07/2019.
- [4] **Gilles Lapointe, Ph. D.** Notions de toxicologie. 2004, PP 8.
- [5] <http://www.nord.cnerea.fr/UserFiles/File/nord/modules/toxicologie/desc-dosages-toxicologiques-27-03.pdf>, Consulté le 4/07/2019
- [6] <file:///C:/Users/USER/Desktop/2015-Notions-de-toxicologie.pdf>, consulté le 14/05/2020
- [7] <https://www.sante-sur-le-net.com/sante-quotidien/accidents-vie-courante/intoxications/> , consulté le 17/05/2020
- [8] <https://www.csst.qc.ca/prevention/reptox/toxicologie/notions-toxicologie/Pages/05-effet-toxique.aspx> , consulté le 17/05/2020
- [9] <https://pro.addictohug.ch/urgences-crisis-addictions/diapositive17-5/>, consulté le 03/02/2010
- [10] <https://scihub.tw/https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0035378718304156>, consulté le 5/07/2019
- [11] <https://www.geo.fr/environnement/xenobiotique-un-corps-etranger-dans-la-nature-169812>, Consulté le 05/07/2019

- [12] **Jacques-Robert BOISSIER, Claude PIVA**, les formes d'intoxications
- [13] http://scolarite.fmp-usmba.ac.ma/cdim/mediatheque/e_theses/122-08.pdf, consulté le 18/05/2020
- [14] <http://environnement.sante.wallonie.be/home/glossaire/definitions-du-glossaire/definition/intoxication-aigue.html>, consulté le 18/05/2020
- [15] <http://environnement.sante.wallonie.be/home/glossaire/definitions-du-glossaire/definition/intoxication-chronique.html>, consulté le 18/05/2020
- [16] **Hmimou Rachid , Rhalem Naima , Chaoui Hanane , Semlali Ilham , Soulaymani-Bencheikh Rachida**, Toxicovigilance, Rapport général et spécifique, année 2018, Consulté le 27 / 04 /2020
- [17] https://urgenceserveur.fr/IMG/pdf/identification_toxiques_dosages_sfar99.pdf, Consulté le 24/03/2020
- [18] **F. Lapostolle , H. Gourlain , F. Adnet , C. Lapandry**, Identification des toxiques et dosage,
- [19] <https://www.msmanuals.com/fr/professional/blessures-empoisonnement/intoxications/principes-g%C3%A9n%C3%A9raux-sur-les-intoxications>, Consulté le 19/05/2020
- [20] Diagnostic et prise en charge des intoxications aiguës
- [21] <https://www.revmed.ch/RMS/2007/RMS-101/32113>, consulté le 19/05/2020

- [22] **Lelièvre*, Gaspard Beaune, Marie Bretaudeau, David Boelsc, Laurence Lagarcea, Chadi Abbaraa, Alain Turcanta, Marie Brieta, Bertrand Diqueta**, Analyses toxicologiques réalisées en urgence : focus sur les indications et les méthodes analytiques utilisées dans un laboratoire hospitalier.
- [23] https://www.chuliege.be/upload/docs/application/pdf/2016-07/mq.a11.31_-_formulaire_de_demande_danalyses_en_toxicologie_medico-legale.pdf, consulté le 21/12/2019
- [24] **Valérie Baga, Stéphanie Chaffarod**. Les analyses toxicologiques sur Paracelse. Sciences pharmaceutiques. 2001.
- [25] **Hélène Eysseric**, Médecine Légale UFR de Médecine, UF Pharmacologie -Toxicologie CHU de Grenoble.
- [26] https://www.doc-developpement-durable.org/file/Huiles-essentielles/alambics/hydrodistillation/Entrainement-a-la-vapeur_Wikipedia_Fr.pdf consulté le 22/05/2020
- [27] <http://lessentiieldeshuilesessentielles.e-monsite.com/pages/iii-notre-experience/hydrodistillation.html>, consulté le 04/09/2019
- [28] <https://www.doc-developpement-durable.org/file/Huiles-essentielles/alambics/hydrodistillation/TP%20Hydrodistillation%20ou%20entrainement%20%C3%A0%20la%20vapeur.pdf>, consulté le 04/09/2019
- [29] <https://www.draeger.com/Products/Content/short-term-tubes-pi-9104885-fr-fr.pdf>, consulté le 09/01/2020

- [30] http://www.aigep.fr/joomla/images/Manuel_Extraction_Puls%C3%A9.pdf Consulté le 22/05/2020
- [31] <http://dspace.univ-guelma.dz:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/593/brochure%20PDF%202.pdf?sequence=1&isAllowed=y> consulté le 22/05/2020
- [32] <http://culturesciences.chimie.ens.fr/content/lextraction-liquide-liquide-891>, consulté le 11/12/2019
- [33] <https://sante-medecine.journaldesfemmes.fr/faq/17764-decoction-definition> , consulté le 23/05/2020
- [34] <https://fr.wikipedia.org/wiki/Infusion> , consulté le 23/05/2020
- [35] <http://www.bonneplante.com/maceration.php> , consulté le 23/05/2020
- [36] <https://fsnv.univ-setif.dz/telecharger/polycopie/benabdallah%20hassiba.pdf> , consulté le 23/05/2020
- [37] <https://www.lachimie.fr/materiel/extraction.php>, consulté le 24/05/2020
- [38] https://www.humeau.com/media/blfa_files/__CO_MG_oeolutions-extraction_FR_201010_77200081600.pdf , consulté le 23/05/2020
- [39] <https://www.cphr.fr/conservatoire/collections/patrimoine-medical/autres-disciplines/biologie-medicale/extracteur-de-kumagawa/>? Consulté le 24/05/2020
- [40] **Luc Humbert, Bd. du Prof. J. Leclercq**, Solid phase extraction (SPE), theory and applications, 59037 Lille, France

- [41] <http://culturesciences.chimie.ens.fr/content/lextraction-liquide-liquide-891>, consulté le 11/12/2019
- [42] <https://www.lachimie.net/index.php?page=34#.XsqCUXUzbIU> , consulté le 24/05/2020
- [43] <http://c.21-bal.com/doc/7251/index.html>, consulté le 13/12/2019
- [44] <http://e.m.c.2.free.fr/protocole-dilution.html>, consulté le 24/05/2020
- [45] https://tice.agroparistech.fr/coursenligne/courses/SIAFEEAGRONOMIE5bd9/document/peuplements/sol/part2_mo_degradation.htm, consulté le 26/05/2020
- [46] **Laurence Labat**, Biological matrices preparation for determination of metals, Hôtel Dieu, Service Pharmacie-Pharmacologie-Toxicologie, 1 place du Parvis Notre Dame, 75181 Paris Cedex 04, France
- [47] <https://www.chimie-experts.org/var/secf/storage/original/application/804011d3446a1bc91f7982a4f6d75325>, consulté le 26/05/2020
- [48] **G. PEPIN, M. DEVEAUX, J.P. GOULLE, P. KINTZ, P.MARQUET.** THE AUTOPSY SAMPLES NEEDED FOR A TOXICOLOGICAL EXPERT APPRAISEMENT
- [49] **Bernard CAPOLAGHI, Mustapha MOULSMA, Nicole HOUDRET, Frédéric J. BAUD.** Stratégies analytiques en toxicologie d'urgence. (Analytical strategy in emergency toxicology).

- [50] http://www.sciences-en-ligne.com/DIST/Data/Ressources/lic2/chimie/chi_exp/colorimetrie/sommaire.htm, consulté le 26/05/2020
- [51] <http://dspace.univ-tlemcen.dz/bitstream/112/1121/11/chapitre%206.pdf>, consulté le 27/05/2020
- [52] <http://www.chimix.com/an15/prem15/oxydo1.html>, consulté le 27/05/2020
- [53] **C Charlier, G Plomteux**, La place actuelle de l'immunoanalyse en toxicologie clinique
- [54] http://www8.umoncton.ca/umcm-gauthier_didier/siitub/idquant.html, consulté le 13/12/2019
- [55] <https://www.analyticaltoxicology.com/analyse-methodes-immunologiques/> consulté le 10 /05/2020
- [56] Immunoanalyse et toxicologie Immunoanalysis and toxicology
Laurence Labat¹, Marc Deveaux² 1 Laboratoire de Toxicologie et Génopathies, Lille 2 Laboratoire TOXLAB, Paris
- [57] **Cécile Chopinet**. Les méthodes d'analyse en toxicologie dans la police scientifique depuis l'affaire. Marie Besnard. Sciences pharmaceutiques. 2012.
- [58] <https://sms-bse-bgb.discip.ac-caen.fr/spip.php?article475> , consulté le 13/12/2019
- [59] <https://www.analyticaltoxicology.com/chromatographie-liquide-haute-performance-hplc/>, consulté le 13/12/2019

- [60] <https://www.analyticaltoxicology.com/chromatographie-liquide-haute-performance-hplc/>, consulté le 13/12/2019
- [61] <https://nl.wikipedia.org/wiki/UPLC>, consulté le 14/12/2019
- [62] <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/lafont/electrophorese/E1.html>, consulté le 14/12/2019
- [63] **B.GORDEN, W.LOISEL.** Guides pratiques d'analyses dans les industries des céréales. P 209
- [64] <http://www.takween.com/techniques/electrophorese.html>, consulté le 06/06/2020
- [65] **Laurence LABAT, Marc DEVEAUX', Jean-Pierre DUBQST.** Applications de l'électrophorèse capillaire en toxicologie clinique et médico-légale. P 181
- [66] <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/lafont/electrophorese/E1.html>, consulté le 14/12/2019
- [67] **Jacques Lisfranc, Aude Barani.** LES MÉTHODES D'ÉLECTROPHORESE : L'ESSENTIEL. Faculté de Médecine
- [68] http://univ.ency-education.com/uploads/1/3/1/0/13102001/pharm2an16_chimie_anal_saa_sea.pdf , consulté le 28/05/2020
- [69] <file:///C:/Users/USER/Downloads/chap%20IV%20S4.pdf> , consulté le 28/05/2020
- [70] <https://studylibfr.com/doc/10034919/1--la-spectrometrie-d-emission--atomique-2018>, consulté le 29/05/2020

- [71] <https://www.radium.de/fr/produits/lampe-vapeur-de-sodium-basse-pression-sox-plus-35w230by22d>, consulté le 02/01/2020
- [72] https://www.heraeus.com/fr/hng/products_and_solutions/lamps_for_optics_and_analytics/hollow_cathode_lamps.html, consulté le 02/01/2020
- [73] <http://chemphys.u-strasbg.fr/mpb/teach/daniel/Projet/materiel.htm>, consulté le 29/05/2020
- [74] <http://chemphys.u-strasbg.fr/mpb/teach/daniel/Projet/source.htm>, consulté le 29/05/2020
- [75] http://phozagora.free.fr/?page=zoom_lampeid&type=Decharge, consulté le 29/05/2020
- [76] [file:///C:/Users/USER/Downloads/chap%20IV%20S4%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/USER/Downloads/chap%20IV%20S4%20(1).pdf), consulté 29/05/2020
- [77] https://www.pangas.ch/fr/processes/analysis_and_instrumentation/atome_missions_spektrometrie/atomemissions_spektrometrie.html, consulté le 31/05/2020
- [78] http://univ.ency-education.com/uploads/1/3/1/0/13102001/pharm2an16_chimie_anal_saa_sea.pdf, consulté le 31/05/2020
- [79] <https://www.fp-lims.com/fr/methode-de-mesure/spectroscopie-demission-atomique-sea/>, consulté le 29/05/2020

- [80] **José Carlos Diaz Rosado.** Étude et développement de la spectroscopie d'émission optique sur plasma induit par laser pour la réalisation d'analyses de terrain : application à l'analyse en ligne de métaux dans les liquides. Autre [cond-mat.other]. Université Paris Sud - Paris XI, 2013.
- [81] <http://mathias.borella.fr/2-1-La-spectroscopie-infrarouge.html>, consulté le 01/06/2020
- [82] <https://cours.espci.fr/site.php?id=26&fileid=689>, consulté le 01/06/2020
- [83] <https://docplayer.fr/15808227-La-spectroscopie-infrarouge.html>, consulté le 01/06/2020
- [84] <https://www.newport.com/f/qth-lamps>, consulté le 02/01/2020
- [85] **Marie-Claude Meneta.** Principes de la spectrométrie de masse.
- [86] <http://culturesciences.chimie.ens.fr/print/753?print=yes&nid=753>], consulté le 17/02/2020
- [87] <https://www.futura-sciences.com/sciences/definitions/physique-rmn-1987/>, consulté le 17/02/2020
- [88] <https://www.lachimie.fr/analytique/rmn/>, consulté le 03/06/2020
- [89] <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/lafont/spectro/C5.html>, consulté le 03/06/2020
- [90] <https://cours.espci.fr/site.php?id=41&fileid=1507>, consulté le 03/06/2020
- [91] <https://www.superprof.fr/ressources/scolaire/physique-chimie/terminale-s/la-spectroscopie/spectre-vmn.html>, consulté le 17/02/2020

- [92] **Monique Mayor, Guilhem Bourrié.** Validation d'une méthode de chimie analytique. Application au dosage des anions fluorure, chlorure, nitrite, bromure, nitrate, phosphate et sulfate par chromatographie ionique.
- [93] **Marie-Dominique Blanchin.** Validation des méthodes d'analyse
Laboratoire de Chimie Analytique.

Serment d'Hippocrate

Au moment d'être admis à devenir membre de la profession médicale, je m'engage solennellement à consacrer ma vie au service de l'humanité.

- *Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur sont dus.*
- *Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité. La santé de mes malades sera mon premier but.*
- *Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.*
- *Je maintiendrai par tous les moyens en mon pouvoir l'honneur et les nobles traditions de la profession médicale.*
- *Les médecins seront mes frères.*
- *Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération politique et sociale ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.*
- *Je maintiendrai le respect de la vie humaine dès la conception.*
- *Même sous la menace, je n'userai pas de mes connaissances médicales d'une façon contraire aux lois de l'humanité.*
- *Je m'y engage librement et sur mon dieu*

قسم ابقر اط

بسم الله الرحمان الرحيم
أقسم بالله العظيم

في هذه اللحظة التي يتم فيها قبولي عضوة في المهنة الطبية أتعهد علانية:

- أكرس حياتي لخدمة الإنسانية.
- وأنا أحترم أساتذتي وأعترف لهم بالجميل الذي يستحقونه.
- وأنا أمارس مهنتي بوازع من ضميري وشرفي جاعلة صحة مريضى هدى الأول.
- وأنا لا أفشى الأسرار المعهودة إلي.
- وأنا أحافظ بكل ما لدي من وسائل على الشرف والتقاليد النبيلة لمهنة الطب.
- وأنا أعتبر سائر الأطباء إخوة لي.
- وأنا أقوم بواجبي نحو مرضاي بدون أي اعتبار ديني أو وطني أو عرقي أو سياسي أو اجتماعي.
- وأنا أحافظ بكل حزم على احترام الحياة الإنسانية منذ نشأتها.
- وأنا لا أستعمل معلوماتي الطبية بطريق يضر بحقوق الإنسان مهما لاقيت من تهديد.
- بكل هذا أتعهد عن كامل اختيار ومقسمة بالله.

والله على ما أقول شهيد.



المملكة المغربية
جامعة محمد الخامس بالرباط
كلية الطب والصيدلة
الرباط



جامعة محمد الخامس بالرباط
Université Mohammed V de Rabat

أطروحة رقم: 67

سنة : 2020

:

دراسة

الطرق التحليلية في علم السموم

قدمت ونوقشت علانية يوم : / / 2020

من طرف

السيدة: جهاد الكامل

المردادة في 14 نونبر 1995 بالمحمدية

لنيل شهادة

دكتوراة في الصيدلة

الكلمات الأساسية : التسمم ، سام ، الطريقة ، التحليل ، المختبر .

أعضاء لجنة التحكيم:

رئيس	السيد يلسر بوسليمان أستاذ علم السموم
مشرف	السيد رشيد الجودي أستاذ في علم السموم
عضو	السيد مصطفى بوعتيا أستاذ في الكيمياء التحليلية
عضو	السيد جواد الحارتي أستاذ في الكيمياء الطبية