

UNIVERSITE DE LILLE

**FACULTE DE MEDECINE HENRI WAREMBOURG**

Année 2024

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT  
DE DOCTEUR EN MEDECINE

**Utilisation des micro-prélèvements sanguins en  
thanatologie médico-légale**

Présentée et soutenue publiquement le 26 septembre 2024  
à 18 h 00 au Pôle Formation

**Par Myriam NDOYE, nom d'usage BERTRAND-NDOYE**

**Née le 10 mai 1995**

**JURY**

**Président :**

Monsieur le Professeur Valéry HEDOUIN

**Asseseurs :**

Monsieur le Docteur Yann DELANNOY

Monsieur le Docteur Jean-Michel GAULIER

**Directeur de thèse :**

Monsieur le Dr Hugo GIRARD

## **AVERTISSEMENT**

*La Faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs.*

## ABREVIATIONS

**6-MAM** : 6-acétylMorphine

**BZE** : benzoylecgonine

**C/P** : central /périphérique

**CHU** : Centre Hospitalo-Universitaire

**DBS** : dried blood spot, goutte de sang séchée

**DPM** : délais post mortem

**IMC** : Indice de Masse Corporel

**IML** : Institut Médico-légale

**NaF** : fluorure de Sodium

**EME** : ester méthylique d'ecgonine

**Etg** : ethylglucuronide

**M3G** : morphine-3-glucuronide

**M6G** : morphine-6-glucuronide

**Peth** : phosphadidylethanol

**PKa** : constante d'acidité

**pH** : potentiel hydrogène

**THC** : tétrahydrocannabinol

**VAMS** : volumetric absorptive micro sampling

**VD** : volume de distribution

# SOMMAIRE

Avertissement.....	2
Abréviations.....	4
Remerciements .....	3
Contexte.....	7
I- INTRODUCTION.....	9
A- Les facteurs influençant les concentrations plasmatiques post mortem .....	9
1. La Redistribution <i>Post Mortem</i> .....	9
2. La putréfaction.....	14
B- Les facteurs propres aux prélèvements toxicologiques sanguins <i>post morte</i> .	16
1. Choix d'un site de prélèvement .....	16
2. Précocité du prélèvement.....	16
C- Supports de prélèvements sanguins.....	17
1. Les tubes de prélèvement .....	17
2. Les micro-prélèvements sanguins .....	18
II- MATERIELS ET METHODES .....	21
1. Type d'étude .....	21
2. Objectifs.....	21
3. Recrutement .....	22
4. Matériel utilisé.....	23
5. Protocole de prélèvements 2023 .....	24
a. Prélèvements T1 .....	24
b. Prélèvements T2 .....	25
6. Recueil des données .....	26
7. Analyses toxicologiques.....	27
8. Analyse Statistique .....	29
III- RESULTATS.....	31
1. Effectifs.....	31
2. Résultats sur la réalisation pratique des prélèvements.....	32
3. Site de prélèvements des cas analysés.....	33

4.	Caractéristiques de la population étudiée .....	34
5.	Résultats toxicologiques .....	34
6.	Résultats toxicologiques par molécule.....	36
6.1	Alcool .....	36
6.2	Opiacés.....	41
6.3	Méthadone et métabolites.....	44
6.4	Tramadol et ses métabolites .....	46
6.5	Cocaïne et ses métabolites.....	49
6.6	Cannabis et ses métabolites .....	53
6.7	Benzodiazépines.....	56
IV-	DISCUSSION .....	63
1.	Le site de prélèvement .....	63
1.1	2021 : prélèvements capillaires des doigts .....	63
1.2	2023 : prélèvements sur les membres inférieurs.....	64
2.	Variations des concentrations observées par molécules.....	66
2. 1	Alcool .....	66
2.2	Opiacés et opioïdes .....	72
2.3	Tramadol.....	84
2.4	Cocaïne.....	85
2.5	Cannabis.....	90
2.6	Benzodiazépines.....	92
3.	Les limites de l'étude .....	96
3.1	Effectifs .....	96
3.2	Reproductibilité et données manquantes .....	97
3.3	Analyse statistique .....	98
3.4	Ouverture .....	98
V-	CONCLUSION .....	99
VI-	BIBLIOGRAPHIE .....	101
VII-	ANNEXES.....	107

## CONTEXTE

L'autopsie médico-légale effectuée en Institut Médico-Légale (IML) à la demande de l'autorité judiciaire a pour objectif de rechercher les causes de mort. La recherche d'une substance toxique, étant à l'origine directe du décès ou ayant pris part au déterminisme mortel, fait donc partie de la responsabilité du médecin légiste. Pour la mener à bien, il doit réaliser les prélèvements opportuns.

Les bonnes pratiques de ces prélèvements ont été définies de façon générale par l'arrêté du 2 novembre 1994 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale, et donc à la toxicologie, sans s'appliquer *stricto sensu* à la toxicologie médico-légale. En 1996, la commission toxicologie médico-légale de la Société Française de Toxicologie Analytique (SFTA) (1) précise spécifiquement les prélèvements autopsiques à réaliser pour la bonne exécution des expertises toxicologiques. Elle établit, entre autres, la nécessité de leur conservation au froid ou en congélation (à l'exception des cheveux), et préconise la réalisation de prélèvement en double exemplaire ainsi que la nécessité de prélever d'emblée tous les milieux biologiques nécessaires pour la recherche des causes toxiques de la mort. Ces mesures ont pour objectif de garantir la possibilité d'une contre-expertise et les déterminations de la concentration des substances recherchées les plus fiables et représentatives de celles pouvant être présentes lors du décès.

Aucun texte ne fixe la durée de conservation de ces prélèvements, et leur destruction ne se fait qu'après accord écrit des autorités judiciaires. Cette conservation pourrait théoriquement durer jusqu'au classement ou au jugement de l'affaire.

Cette étude traite en particulier des prélèvements sanguins *post mortem* à visée d'expertise toxicologique. Dans ce domaine les méthodes analytiques sensibles associées à des techniques de préparations innovantes ont permis une meilleure

analyse des prélèvements. Cependant, ces méthodes ne permettent pas totalement de s'affranchir de l'instabilité des xénobiotiques. Ces derniers sont soumis à des phénomènes intervenants d'une part dans le corps après le décès (*in cadaver*), d'autre part au sein même des prélèvements destinés à une longue durée de conservation (*in vitro*).

En introduction, nous présenterons d'abord les mécanismes du phénomène de redistribution *post mortem*. Ensuite nous aborderons la putréfaction du corps, puis les problématiques de conservation des échantillons sanguins. Par la suite, nous présenterons l'étude mise en place à l'IML du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Lille et son protocole de prélèvement en réponse aux problématiques de site, de délai *post mortem* (DPM) et de stabilité lors de la conservation des prélèvements.

Nous présenterons les résultats obtenus et les discuterons sous l'éclairage de travaux antérieurs. Enfin, à partir des résultats mis en évidence, nous proposerons des pistes d'amélioration de la pratique médico-légale à l'aide de ces outils.

## I- INTRODUCTION

### A- Les facteurs influençant les concentrations plasmatiques post mortem

#### 1. La Redistribution *Post Mortem*

La redistribution *post mortem* (RPM) est un phénomène complexe et constitue une source de difficulté d'interprétation des résultats toxicologiques quantitatifs. Le ratio Cardiaque/Périphérique (C/P) est communément utilisé pour quantifier la RPM d'une substance. Quand il est supérieur à 1, celle-ci est considérée comme ayant une RPM importante.

Tout d'abord, rappelons que la concentration d'une substance exogène chez le sujet vivant, est variable tant dans le temps en différents points du corps. Celle-ci varie dans le temps en fonction des différentes phases du métabolisme d'un individu, et diffère selon le site du prélèvement. Elle peut par exemple différer entre le sang artériel et le sang veineux.

Le décès se produit lors d'une des phases de ce métabolisme, par exemple en cas d'overdose, il peut survenir avant que l'absorption et/ou la distribution de la molécule soit achevée, ce qui peut entraîner un ratio C/P très différent de celui obtenu chez un patient traité ou consommateur régulier qui décède à distance de la consommation (2). A cela s'ajoute à partir de l'instant du décès l'ensemble des processus décrit ci-dessous.

## 1.1 Les propriétés de la molécule

Les propriétés intrinsèques des substances exogènes influencent leur RPM. La distribution du médicament dépend d'un certain nombre de facteurs, tels que le volume de distribution, la lipophilie, le pKa, le transport dépendant de l'énergie et l'affinité tissulaire du médicament.

### a. Le volume de distribution

Le volume de distribution (Vd) est défini comme la quantité de médicament dans l'organisme divisée par la concentration plasmatique du médicament, exprimée en litres par kilogramme (L/kg). Un certain nombre de facteurs affectent le Vd, notamment les propriétés du médicament, l'âge, le sexe, la composition corporelle et la présence d'une pathologie.

Il est par exemple attendu que les médicaments qui présentent de fortes liaisons aux protéines plasmatiques mais pas aux composants tissulaires aient un faible Vd, égal à celui du volume plasmatique. Au contraire, les médicaments qui se distribuent dans les muscles, le tissu adipeux et d'autres constituants intracellulaires auront un Vd élevé.

Lors de la mort et de la lyse cellulaire, les médicaments sont libérés dans le plasma, entraînant une augmentation de la concentration *post mortem*. Les médicaments ayant un Vd supérieur à 3 L/kg sont alors les plus susceptibles de subir une RPM (3).

### b. La lipophilie et pka

Le pKa, est une constante d'acidité qui révèle la tendance d'une molécule à libérer un proton (H+) dans une solution. Plus le pKa est bas, plus l'acide est fort et il

a une forte propension à libérer des protons. En revanche, les bases fortes ont des pKa élevés.

Les médicaments lipophiles et les bases organiques vont se concentrer dans les organes solides comme les poumons, le foie et le myocarde. Après la mort cela fournit un gradient de concentration pour une diffusion passive des molécules en sens inverse.

Le contenu d'une cellule est en grande partie aqueux et devient acide après la mort. Étant donné qu'un médicament basique sera progressivement plus ionisé dans un milieu de plus en plus acide, après la lyse cellulaire, les médicaments basiques se distribueront plus facilement au travers des tissus et dans le secteur vasculaire du fait de leur transport dans le fluide acide dans lequel ils sont dissous (3).

## 1.2 Les phénomènes agoniques et cadavériques

### 1.2.1 La lyse cellulaire

Lors de l'apoptose, la rupture des membranes cellulaires conduit au relargage de son contenu. Les variations du pH et du gradient moléculaire favorisent la diffusion de certaines molécules à travers la paroi gastrique. Ce phénomène influence aussi la glycémie, le glucose, n'étant plus contenu en intra-cellulaire.

Ces phénomènes de lyse atteignent toutes les cellules de l'organisme, mais avec une vitesse variable. Ceci peut entraîner la poursuite du métabolisme de certaines molécules pendant quelques heures, avec pour conséquence une diminution de la concentration de la molécule mère au profit de celles de ses métabolites ou, au contraire, une augmentation des concentrations de la molécule mère. Cela impose de doser toutes les formes moléculaires présentes (4).

### 1.2.2 Les mouvements sanguins *post mortem*

Avec le désamorçage de la pompe cardiaque, on assiste à un changement de pression et de fluidité sanguine. Lorsque la rigidité cadavérique s'installe, la contraction musculaire provoque un reflux de sang cardiaque dans les veines caves et les troncs supra-aortiques. Le sang de l'aorte abdominale reflue vers l'aorte thoracique, celui de la veine cave inférieure vers l'atrium droit et celui de la veine cave supérieure et des cavités gauches vers les veines pulmonaires. Lors de la résolution de la rigidité, le sang reflue à nouveau en sens inverse et vers les veines périphériques (4).

### 1.2.3 La redistribution depuis les organes

Du vivant les organes dit « réservoirs » concentrent les substances exogènes. Après la mort, plusieurs organes relarguent les substances exogènes absorbées du vivant de manière plus ou moins importante.

Le phénomène est massif s'agissant des poumons. Ces derniers reçoivent le flux sanguin directement depuis le ventricule droit. De ce fait ils accumulent beaucoup de substances exogènes, particulièrement des bases faibles et lipophiles comme la Méthadone. Composée d'une membrane fine, la surface des alvéoles pulmonaires constitue une surface de diffusion large à travers laquelle le transfert se fait facilement. Le relargage de ces substances commence dès deux heures après le décès. La rediffusion se fait majoritairement vers les cavités cardiaques adjacentes, par la circulation vasculaire du fait de l'importante double vascularisation pulmonaire.

Le tractus intestinal est à l'origine d'une rétribution vers les cavités cardiaques, l'aorte et à la veine cave inférieure par vascularisation. Les molécules subissent également une diffusion passive les redistribuant préférentiellement vers le lobe inférieur du poumon gauche, le lobe caudé et la marge postérieure du lobe gauche du foie, voire la partie postérieure du lobe droit si le corps demeure en décubitus dorsal.

A noter qu'il a été relevé des concentrations supérieures dans l'aorte et la veine cave supérieure qui pourraient également démontrer un phénomène de diffusion par contamination des voies aériennes lors d'une régurgitation. Ces phénomènes sont influencés par la concentration des substances exogènes intra intestinales et le volume gastrique.

Les processus de redistribution entourant le foie sont particulièrement complexes, celui-ci étant lui-même le siège d'une diffusion de molécule depuis le tractus gastro-intestinal. Des mouvements de diffusion passive s'effectuent à contre sens vers l'estomac, le pylore, le duodénum et la vésicule biliaire. Du fait de la vascularisation du foie, les molécules se transfèrent également des veines hépatiques vers la veine cave inférieure puis vers les cavités droites du cœur et les vaisseaux pulmonaires.

Chez les sujets vivants, les médicaments ayant un tropisme pour les tissus cardiaques sont concentrés dans le myocarde. Après la mort, ceux-ci sont relargués dans le sang cardiaque, dans lequel les concentrations augmentent considérablement. Puisque l'augmentation spectaculaire de la concentration observée dans le sang cardiaque peut résulter de la redistribution de l'estomac, poumons ou du foie, la preuve de la redistribution myocardique serait démontrée comme le principal mécanisme responsable de cette augmentation par des concentrations plus élevées de médicament dans les chambres cardiaques gauche et droite que dans le vaisseau péri cardiaques (2).

De manière générale, compte tenu des différentes redistributions en direction du sang cardiaque, celui-ci n'est pas reconnu comme reflétant au mieux les concentrations *antemortem*.

Une augmentation modérée est décrite pour les vaisseaux sous-claviers, qui ne peuvent donc pas être considérés comme du sang périphérique.

Plusieurs cas dans lesquels le sang fémoral était plus concentré que le sang cardiaque ont été mis en évidence, et expliqués par des manœuvres de réanimation *périmortem*. Celles-ci sont susceptibles d'engendrer un phénomène de « chasse » du sang cardiaque vers le sang périphérique, avec une augmentation des concentrations dans le sang périphérique, voire un ratio C/P inférieur à 1 (4).

Enfin, il existe un phénomène très lent et minoritaire de redistribution depuis les tissus adipeux.

A l'hétérogénéité des concentrations des xénobiotiques du vivant se surajoute donc celle induite par la RPM. Il conviendra pour le médecin légiste de choisir le site de prélèvement approprié et de le préciser à destination de l'expert toxicologue afin de garantir une analyse toxicologique pertinente.

## 2. La putréfaction

Le processus de décomposition diffère selon les cadavres et n'est pas homogène au sein d'un même corps. L'environnement de la décomposition joue sur sa variabilité.

Suite au décès, en quelques heures, les bactéries intestinales diffusent dans le sang et dans le réseau lymphatique. Elles contribuent à la dégradation ou à la formation de composés moléculaires.

Un exemple de formation moléculaire réside dans la production d'alcool par fermentation *post mortem*. Signalée pour la première fois en 1936 (Nicloux 1936; Wagner 1936) (5) (6), elle fut ensuite bien établie par de nombreux auteurs (7). Elle se fait essentiellement par les levures et bactéries présentes dans les intestins, les voies

respiratoires et l'environnement. Après la mort, celles-ci vont continuer de se multiplier en condition anaérobie et produire de l'éthanol par réaction de fermentation de divers substrats : principalement du glucose, rendu d'autant plus disponible par la lyse cellulaire. Des substrats de moindre importance (lipides, carbohydrates plus complexes, protéines) sont convertis en monomères avant d'être utilisés par des voies enzymatiques accessoires.

L'éthanol produit peut alors se retrouver présent dans le sang au cours de la période *post mortem* du fait de phénomène de redistribution *post mortem*, voire par contamination directe du fait des dommages organiques en cas de décès dans des circonstances traumatiques (8).

Chez l'homme, la concentration d'éthanol produit est fonction de la température, du délai *post mortem* (DPM), de la concentration et du type de substrat du nombre de microbes, de l'activité de l'alcool déshydrogénase et de la présence ou non d'antibiotiques (9,10).

De plus, la putréfaction est également à l'origine d'une dégradation secondaire de l'éthanol néo-formé ou déjà présent, lorsque les substrats privilégiés sont épuisés (11).

Une production d'alcool dans les tubes après le prélèvement est possible : les premiers facteurs influençant cette production sont la température et le temps de stockage. Le type des espèces bactériennes contenues dans les tubes, leurs concentrations et la présence de glucose influencent aussi cette production (7).

Le bon échantillonnage des prélèvements fait partie intégrante de la garantie de résultats les plus fiable possible afin d'éviter la production ou la dégradation des substances recherchées à l'intérieur du tube, et ainsi de garantir une analyse de qualité.

## B- Les facteurs propres aux prélèvements toxicologiques sanguins *post mortem*

### 1. Choix d'un site de prélèvement

Le phénomène de distribution *post mortem* est connu depuis plusieurs années. Pour minimiser au maximum son interférence, le site de prélèvement serait théoriquement le plus périphérique et donc par ordre de préférence (12) :

- sang du creux poplité
- sang fémoral
- sang sous-clavier
- sang cardiaque droit
- sang cardiaque gauche.

Clamper la veine iliaque et la veine cave avant le prélèvement fémoral pourrait en théorie permettre d'éviter un reflux de sang central vers les vaisseaux périphériques (2,3). Ce n'est cependant pas réalisé en routine.

En pratique en autopsie, les protocoles de prélèvements peuvent varier. A l'IML de Lille, la ponction percutanée de l'artère fémorale est privilégiée en routine conformément aux recommandations de ne pas considérer le sang sous-clavier comme du sang périphérique.

### 2. Précocité du prélèvement

Les phénomènes constitutifs de la RPM interviennent rapidement après le décès. L'activité enzymatique cesse pour certaines enzymes dans les 24 à 36 heures suivant le décès, et peut survenir plus tard encore pour d'autres (4). La rigidité cadavérique, débute dès les deux premières heures du décès, devient maximale entre 6 et 12 heures *post mortem*, et est résolue après les premières 24h. La redistribution

depuis les poumons et l'augmentation des concentrations des substances exogènes commencent dès la deuxième heure après le décès dans le sang cardiaque (13). Plus le DPM augmente, plus les concentrations sanguines sont susceptibles de différer significativement de celles présentes lors du décès. En pratique, en comptant le temps de découverte du corps et celui de son acheminement dans un IML, le corps peut ainsi reposer de un à cinq jours avant que les prélèvements toxicologiques ne soit réalisés . Ces derniers ne sont pas réalisés en routine lors de la levée de corps, qui ne concerne qu'une partie des corps acheminés à l'IML, dès lors que le médecin légiste a notion qu'un examen de corps ou qu'une autopsie sera réalisée.

Le DPM est la première variable de l'importance de la redistribution *post mortem*. Les phénomènes de putréfaction et de redistribution des xénobiotiques surviennent dès les toutes premières heures suivant le décès et se majorent avec l'augmentation du DPM.

## C- Supports de prélèvements sanguins

### 1. Les tubes de prélèvement

La qualité du prélèvement sanguin sur tube réside dans son remplissage, avec le moins d'espace de tête possible, indépendamment du volume sanguin. Le choix d'un tube adéquat est aussi à prendre en compte.

Le tube fluoré dit « gris » est le tube de 4 ml utilisé en routine pour le recueil du sang à visée d'analyse toxicologique. Il contient du fluorure de sodium (NaF) et de l'oxalate de potassium visant respectivement à inhiber la glycolyse et la coagulation. Les échantillons prélevés à visée toxicologique sont systématiquement réfrigérés ou congelés.

Ajoutons que l'analyse des prélèvements recueillis lors de l'autopsie n'est réalisée qu'à la réception d'une mission sur réquisition judiciaire. Les délais entre la réalisation de l'autopsie et celle de l'expertise toxicologique sont très variables, généralement plusieurs semaines mais pouvant atteindre des mois voire des années (14). En l'absence de mission d'analyse ou de destruction, ces prélèvements sont conservés en laboratoire. Le transport et le stockage des tubes peuvent s'avérer compliqués, coûteux et susceptibles d'être à l'origine de pertes, bris, d'altération des prélèvements.

## 2. Les micro-prélèvements sanguins

Le développement de méthodes analytiques a permis la réduction du volume sanguin nécessaire et l'apparition de systèmes alternatifs de mini ou micro-prélèvements, indépendants de l'hématocrite (15,16). Ainsi, un échantillon prélevé sur un tube pédiatrique de 0,25 à 0,5 ml constitue désormais un volume suffisant pour un dosage fiable d'éthanolémie.

On définit aujourd'hui, un système de micro-prélèvement comme tout système assurant un prélèvement d'un volume maximal de 50  $\mu$ L. Ces systèmes de micro-prélèvements utilisent des disques de papier pour recueillir le sang. I

L'utilisation des spots de sang séché à partir de gouttes de sang recueillies sur du papier buvard type *Dried Blood Spot (DBS)* remonte aux tests de Guthrie (dépistage néonatal, initialement pour la phénylcétonurie, puis étendu à une dizaine de maladies familiales). Ces DBS permettent des analyses quantitatives qui se sont rapidement développées, et de nombreuses publications ont rapporté des résultats et développements dans des domaines variés.

Parmi ces systèmes sur papier buvard, se sont développés les systèmes par absorption ou *Volumetric Absorptive MicroSampling* (VAMS). Ce sont des descendants des DBS, dont ils présentent tous les avantages avec en plus une indépendance complète vis-à-vis de l'hématocrite de l'échantillon, assurant ainsi une meilleure précision sur le volume de prélèvement et donc sur les résultats quantitatifs obtenus (16). Ils sont particulièrement adaptés au prélèvement de sang total mais peuvent pour les plus récents être utilisés pour d'autres matrices biologiques, comme les urines, le plasma ou encore la salive.

Ce système utilise des bâtonnets en plastique au bout desquels sont fixées des éponges absorbantes permettant de prélever précisément 10, 20 ou 30  $\mu\text{L}$  de matrice biologique. Outre leur rôle de support pour l'éponge, ils permettent d'identifier le prélèvement grâce à la possibilité d'écrire une référence ou un nom au niveau d'un méplat ou de coller une étiquette. La nature exacte de la partie absorbante n'est pas connue car elle a fait l'objet d'un dépôt de brevet pas son inventeur, il s'agit probablement d'un polymère (15). Au moment du prélèvement, le sang monte par simple capillarité à partir d'un prélèvement. Une bonne réalisation du prélèvement consiste à tenir le bâtonnet incliné à 45 °C par rapport à la goutte, l'éponge effleurant juste le sang. Les batônnetts sont conditionnés dans un support : étui plastique ou boîte permettant de les laisser reposer une fois remplis de sang, pour le temps de séchage requis (de 3 à 24 heures) dans de bonnes conditions, à l'abri de la lumière et à température ambiante. On préférera ce séchage dans un endroit sec plutôt qu'en réfrigération ou en congélation une enceinte froide, source d'humidité et de dégradation potentielle de l'échantillon secondaire à un développement microbien ou fongique.

L'utilisation des VAMS a été éprouvée en toxicologie médico-légale du vivant dans le domaine du dépistage des drogues comme la cocaïne et ses métabolites, les opiacés, les cannabinoïdes naturels et de synthèse, et les marqueurs de l'alcoolisme comme le phosphatidyl-éthanol chez le sujet vivant (15).

Cependant, leur utilisation en thanatologie n'est pas établie dans la littérature. Les avantages des VAMS pourraient trouver leur transposition dans le domaine des dosages toxicologiques *post mortem* en raison de leur facilité de réalisation et de stockage. De plus, leur facilité d'utilisation offrirait la possibilité de les utiliser sur des sites périphériques très distaux apportant parfois moins de sang, mais répondant aux critères de bonne pratique. Cette facilité permettrait une utilisation précoce comme en levée de corps où le médecin légiste est seul pour effectuer la manipulation du corps. Ce temps de levée de corps est aussi le temps d'intervention le plus précoce permettant de s'affranchir au maximum de la contrainte du DPM.

Les sites de prélèvement le DPM et le support de prélèvement sont autant de facteurs pouvant influencer l'analyse toxicologique. Ces variables sont contrôlables par le médecin légiste. L'utilisation des VAMS constitue le cœur de notre étude qui propose un protocole innovant pour étudier ces trois aspects avec l'utilisation de ces supports sur des sites très distaux avec une comparaison entre deux temporalités.

## II- MATERIELS ET METHODES

### 1. Type d'étude

Il s'agit d'une étude qualitative et quantitative, analytique et monocentrique. Elle a été menée de manière prospective à l'IML du CHU de Lille sur les périodes suivantes : de février 2021 à mai 2021 et d'avril 2023 à décembre 2023.

Un premier protocole avait été mis en place à partir du 1<sup>er</sup> février 2021 dans le cadre d'une étude de l'apport des biomarqueurs d'alcoolisation dans le sang périphérique en période post mortem. Les résultats de ce protocole, élargis à différentes autres substances exogènes, ont été conservés et ajoutés aux résultats des prélèvements réalisés en 2023.

### 2. Objectifs

- Éprouver l'utilisation courante des micro-prélèvements dans leur facilité de réalisation et leur reproductibilité sur les sites de prélèvement les plus périphériques possibles ;
- Analyser les différences de résultat entre ces prélèvements réalisés à temps le plus précoce possible « T1 » et à un temps plus tardif « T2 », au moment de l'examen de corps ou de l'autopsie) ;
- Comparer les résultats obtenus sur les prélèvements des micro-prélèvements T2 avec les prélèvements réalisés en routine dits « classiques ».

Les objectifs de cette étude seront ainsi étudiés sur les molécules suivantes :

- L'alcool qui sera appelé l'éthanol et ses biomarqueurs les Peth (phosphatidylethanol) 16:0/18 :1 et 16 :0/24 :0 et l'éthyglucoronide ;
- La cocaïne et ses métabolites : l'Ester méthylique d'ecgonine (EME), le Benzoylecgonine (BZE) et le Cocaéthylène ;
- Les opiacés, avec l'Héroïne et son métabolite la 6-acétylmorphine (6-MAM), la Morphine et la Codéine ;
- La Méthadone est également dosée avec son métabolite, le 2-éthylidène-1,5-diméthyl-3,3-diphénylpyrrolidine (EPPD) ;
- Le Tramadol et ses métabolites le O-desméthyl tramadol et le N-desméthyl tramadol ;
- Le Cannabis qui sera appelé le THC, et ses métabolites le THC-OH et le THC-COO ;
- Les molécules appartenant à la famille des benzodiazépines.

### 3. Recrutement

L'ensemble des prélèvements a été effectué sur des corps de l'IML de Lille

#### a) Critères d'inclusion

- Corps conservé à l'IML de Lille pour lequel un obstacle médico-légal a été posé et sous la juridiction d'un tribunal judiciaire du Nord et du Pas-de-Calais et pour lequel existe une mission d'autopsie ou d'examen externe avec prélèvement ;
- Corps d'un défunt majeur ;
- DPM estimé inférieur à 96 heures.

#### b) Critères d'exclusion

- Corps putréfié ;
- DPM du corps estimé supérieur à 96 heures ou inconnu ;
- Délai prévisible entre T1 et T2 inférieur à 4 heures ;
- Absence de mission d'autopsie ou d'examen externe avec prélèvement.

Ces critères sont superposables à ceux utilisés lors de l'étude pilote de 2021.

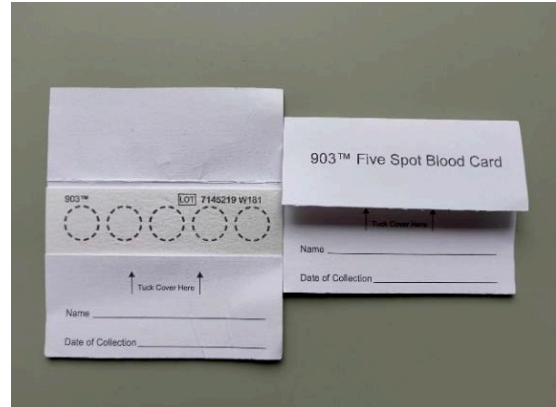
#### 4. Matériel utilisé

En 2021, les micro-prélèvements ont été prélevés sur du sang capillaire à l'aide d'un auto-piqueur à usage unique et le sang a été recueilli sur système DBS Hémaxis® ou sur un VAMS Mitra ® Neoteryx™.

FIGURE 1 : AUTO PIQUEUR A USAGE UNIQUE



FIGURE 2 : SYSTEME DBS HEMAXIS®



Les prélèvements de 2023 ont tous été réalisés à l'aide de VAMS sur du sang prélevé sur veine du pied ou de la cheville par pique de la peau à l'aide d'une aiguille hypodermique (20 gauge) ou par ponction de sang fémoral à l'aide d'une aiguille à trocart (14 gauge) montée sur une seringue 20 ml. Pour les deux périodes d'inclusion, les microtubes *Microcollection Tubes FE* utilisés étaient des tubes fluorés de 0,5 mL de marque BD Microtainer® équipés d'un bec de réception.

FIGURE 3 : BOITE CONTENANT DEUX MITRA ® NEOTERYX™



FIGURE 4 : MICROTUBES MICROCOLLECTION TUBES FE



Les prélèvements dits « classiques » réalisés au temps autopsique ont été effectués sur trois tubes de sang, un tube EDTA « violet » et un tube fluorés « gris » et un tube hépariné « vert ».

## 5. Protocole de prélèvements 2023

Lors de l'entrée d'un corps à l'IML, une évaluation des commémoratifs est réalisée pour recherche des critères d'inclusion requis et des critères d'exclusion.

Des « kits » de prélèvements étaient préalablement été préparés, sous la forme de pochettes plastifiées contenant chacune une boîte de quatre Mitras et deux micro-tubes.

### a. Prélèvements T1

La house mortuaire était ouverte, et les éventuels vêtements recouvrant les membres inférieurs retirés. Il était cherché une veine superficielle apparente du dos des pieds ou en région péri-malléolaire hauteur des chevilles. Le prélèvement était réalisé sur peau propre, préalablement essuyée à l'aide d'une compresse en cas de souillures. La peau était piquée à l'aide d'une aiguille, puis pressée pour obtenir du

sang. En cas d'échec, l'opération était répétée sur un site différent des pieds et des chevilles. Lors de l'obtention d'une goutte de sang, deux Mitras étaient prélevés de leur boîte et effleurés sur les gouttes jusqu'à remplissage de l'éponge. Puis, un micro-tube était appliqué contre la peau avec utilisation du bec de réception afin de récupérer le sang. En cas d'échec, une ponction fémorale était réalisée à l'aide d'une aiguille et d'une seringue. Les micro-tubes étaient centrifugés quelques secondes à l'aide d'un vortex. Les trois prélèvements étaient étiquetés des indications suivantes :

- Mention « T1 »
- Numéro IML du corps
- Date et heure du prélèvement

Les deux Mitras utilisés étaient ensuite replacés dans leur boîte, celle-ci et le micro-tube utilisé étaient replacés dans le sachet qui était déposé en évidence dans la housse mortuaire. La housse mortuaire refermée, le corps était alors placé en réfrigération.

#### **b. Prélèvements T2**

Lors de l'examen externe ou de l'autopsie, la housse était à nouveau ouverte et le sachet y était découvert. Les deux Mitras vierges restant de la boîte et le micro-tube vide étaient étiquetés de la mention « T2 » avec le numéro IML du corps et la date et l'heure du deuxième prélèvement après avoir été utilisés selon les mêmes modalités que pour la première phase.

Les prélèvements autopsiques « classiques » étaient réalisés par ponction fémorale pour des tubes de sang périphérique de 4 ml.

La pochette contenant l'ensemble des prélèvements désormais remplis étaient mise dans le sachet à scellés avec le reste des prélèvements toxicologiques.

Une fois transmis au laboratoire de toxicologie, les prélèvements sur DBS et VAMS étaient stockés à température ambiante, les micro-tubes et tubes de sang étaient conservés à 4 °c.

## 6. Recueil des données

Les données suivantes ont été recueillies pour chaque cas et saisies à l'aide du logiciel Excel :

- Le numéro IML du corps ;
- La référence du service de toxicologique ;
- Le sexe et l'âge du défunt ;
- La date et l'heure du décès figurant sur le certificat de décès ou la date de la découverte relevée sur le procès-verbal de constatation ;
- La date et l'heure du prélèvement T1 ;
- La date et l'heure du prélèvement T2 ;
- Les zones des prélèvements effectués (pied/cheville, fémoral ou autre site) ;
- Des éléments commémoratifs entourant l'entrée du corps à l'IML, comprenant les éventuels antécédents de toxicomanie, les antécédents médicaux, le traitement connu, la présence éventuelle d'alcool, de médicaments ou de substances exogènes à proximité du corps et toute autre circonstance dans la découverte du corps comportant un intérêt potentiel ;
- Les conclusions autopsiques relatives à la cause de décès (standardisés par la fiche de récolte de données autopsiques).

## 7. Analyses toxicologiques

Les séries de prélèvements sont conservées à 4°C au sein de l'IML avant d'être transmises au laboratoire de toxicologie, tous les jours de la semaine du lundi au vendredi, où les DBS et les VAMS sont séparés des tubes de sang pour être conservés à température ambiante.

### 7.1 Dosage d'éthanol dans les matrices *post-mortem*

La recherche et le dosage de l'éthanol (alcool éthylique) ont été effectués sur 100 µL d'échantillon par chromatographie en phase gazeuse couplée au détecteur à ionisation de flamme (HS-CG-FID) (méthode officielle) en utilisant un étalon interne.

### 7.2 Recherche et/ou dosage de médicaments et/ou autres toxiques dans les matrices *post-mortem*

100 µL d'échantillon sont mélangés à 400 µL d'acide sulfosalicylique et 100 µL de l'étalon interne. Après agitation au Vortex pendant 3 min, les mélanges sont centrifugés pendant 10 min à 15 000 tours/min et 75 µL du surnageant sont injectés dans le système chromatographique UPLC (Ultrahigh Performance Liquid Chromatography) couplé à la spectrométrie de masse hybride quadripôle/temps de vol (QTOF) (VION - IMS QTOF (Waters®)).

### 7.3 Recherche de substances de la famille des opiacés/opioïdes, des cannabinoïdes, des dérivés amphétaminiques, de la cocaïne et ses métabolites dans les matrices *post-mortem*

100 µL de sang total sont mélangés à 300 µL de méthanol contenant des étalons internes. Après agitation au Vortex pendant 3 min, les mélanges sont centrifugés pendant 10 min à 15 000 tours/min. 100 µL de surnageant sont mélangés à 100 µL de tampon formate d'ammonium 5 mM à pH 3,0. 10 µL de mélange est injecté dans le

système chromatographique UPLC couplé à la spectrométrie de masse triple quadripolaire (MS/MS) (Xevo® TQ-S (Waters®)).

7.4 Recherche et/ou dosage des phosphatidyléthanols et éthylglucuronide et de substances de la famille des cannabinoïdes sur les buvards Neotérix® (Mitra 10 µL)

Les buvards (Neotérix Mitra®) contenant 10 µL de sang séché sont placés dans un Eppendorf dans lequel 100 µl de solution d'extraction méthanolique contenant les étalons internes sont ajoutés. Après extraction pendant 10 minutes dans une cuve à ultrasons, un premier vial contenant l'extrait pour le dosage des phosphatidyléthanols et de l'éthylglucuronide sanguin, et un second vial contenant l'extrait pour la recherche de substances de la famille des cannabinoïdes, sont préparés. 10 µL de chaque vial sont injectés dans le système chromatographique UPLC couplé à la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS) (Xevo® TQ-S (Waters®)).

7.5 Recherche de substances de la famille des opiacés/opioïdes, des dérivés amphétaminiques, de la cocaïne et ses métabolites et recherche et/ou dosage de médicaments et/ou autres toxiques sur les buvards Neotérix® (Mitra 10 µL)

Les buvards (Neotérix Mitra®) contenant 10 µL de sang séché sont placés dans un Eppendorf dans lequel 100 µl de solution d'extraction sont ajoutés. La solution d'extraction est composée de 9 volumes de méthanol pour 1 volume d'eau ainsi que 0,1% d'acide formique et contient également les étalons internes. L'ensemble est mélangé au Vortex pendant 3 min et placé dans une cuve à ultrasons pendant 10 minutes : cela permet de mélanger et d'extraire les substances présentes sur le buvard avec la solution d'extraction. Après cela, l'ensemble est centrifugé à 15 000 tours/min pendant 14 minutes. L'extrait obtenu est dilué au demi avec une solution tampon de formiate d'ammonium 5 mM à pH3. Dix µL de la solution obtenue sont injectés dans

les systèmes UPLC/MS-MS (Xevo® TQ-S (Waters®)) et UPLC/QTOF (Xevo® G2-XS (Waters®)).

## 8. Analyse Statistique

Les caractéristiques des corps prélevés ont été décrites en présentant les effectifs pour les variables qualitatives, les moyennes et écarts-types pour les variables quantitatives.

Un calcul de moyenne a été utilisé pour les DPM avant prélèvement T1 et pour le  $\Delta T1-T2$ . Un calcul des effectifs et des moyennes a été réalisé pour les sites de prélèvement. L'effectifs des molécules trouvées lors de l'étude a été identifié.

Une analyse de la variance à un facteur a été réalisée pour chaque molécule afin de tester l'hypothèse nulle  $H_0$  selon laquelle les moyennes de de chaque type de prélèvement (T1, T2 et classique) ne présentent pas de différence significative. Une analyse de la variance à deux facteurs, prenant en compte des différences de concentration moyennes en fonction du  $\Delta T1-T2$  selon deux groupes : inférieur à 48h et supérieur à 48h, a été réalisé en plus pour l'éthanol.

Ce delta a été choisi afin d'avoir deux groupes comportant le même nombre d'échantillons. Cependant il trouve son écho dans la vie courante des IML. Les corps admis durant le week-end demeurent facilement 48 heures avant qu'un prélèvement sanguin soit réalisé au cours d'un examen externe ou lors d'une autopsie en début de semaine.

Les risques alpha sont de 5%. Les résultats seront exprimés avec présentation de la moyenne et de la variance pour chaque groupe de prélèvement (T1, T2 et

classique). Le degré de significativité est noté p-value et la statistique notée F s'obtient en divisant la variance entre les groupes par la variance au sein du groupe.

Les analyses statistiques ont été effectuées avec les logiciels XLStat et Excel.

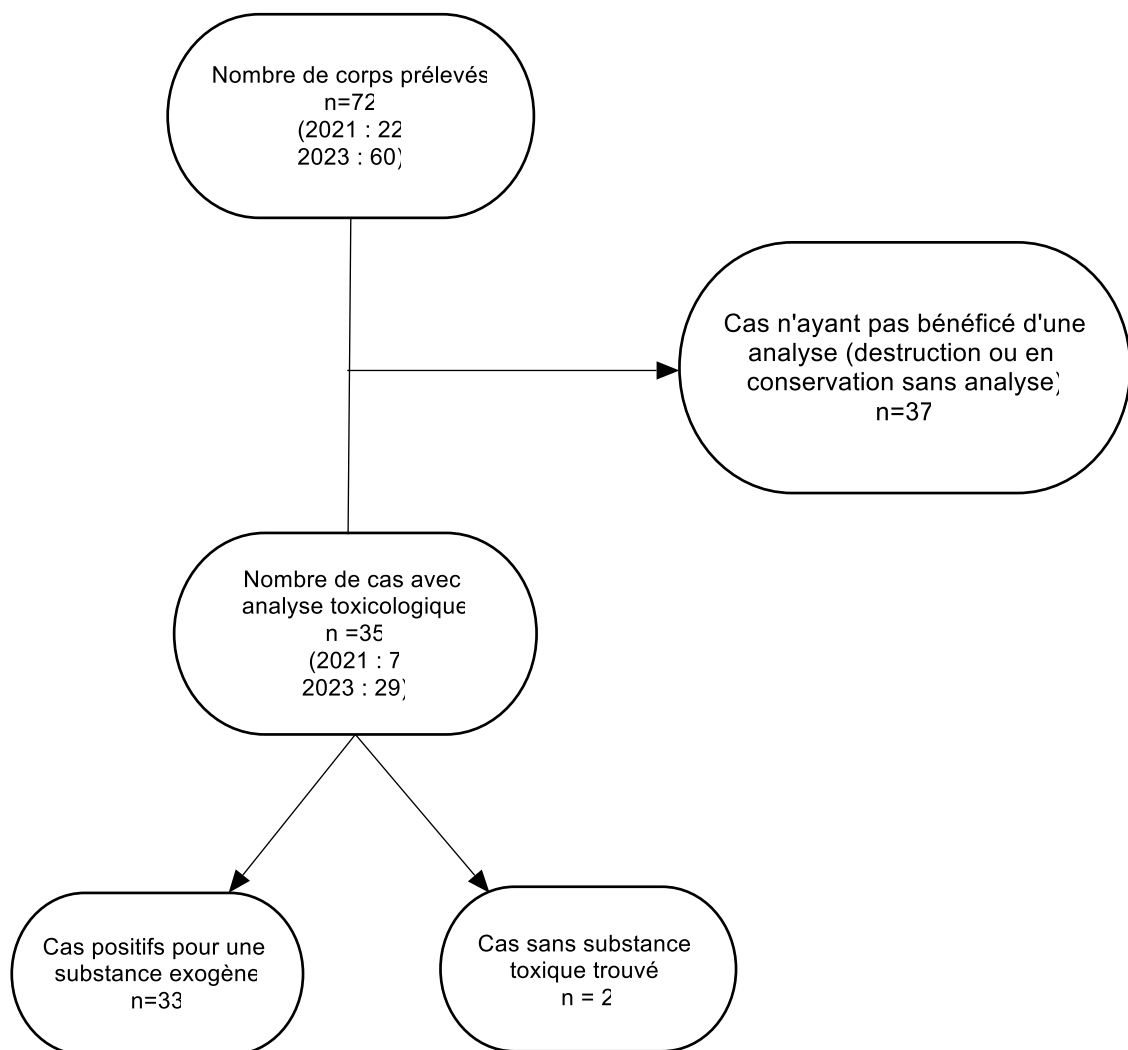
### III- RESULTATS

#### 1. Effectifs

72 corps ont été prélevés sur les deux périodes d'inclusion : 22 en 2021 et 60 en 2023. Parmi ces cas, 35 ont fait l'objet d'une analyse toxicologique dans le cadre d'une mission d'expertise. Le reste des prélèvements a soit fait l'objet d'une destruction sans analyse, soit est conservé dans l'attente d'une mission. L'analyse toxicologique a trouvé au moins une substance exogène pour 33 des cas analysés.

Le déroulé est résumé par la figure 5.

**FIGURE 5 : DIAGRAMME DE FLUX DES INCLUSIONS**



## 2. Résultats sur la réalisation pratique des prélèvements

En 2021, les 22 corps prélevés ont tous été prélevés sur la pulpe du doigt.

En 2023, un des objectifs de l'étude était d'éprouver la réalisation des prélèvements sur la pulpe du gros orteil ou une veine du pied. Aucun prélèvement n'a pu être réalisé sur la pulpe d'un orteil. Nous détaillons ici la réalisation de l'ensemble des prélèvements, qu'ils aient fait ou non l'objet d'une analyse toxicologique par la suite (Tableau 1).

Au temps de prélèvement T1, 66 % des Mitras ont été réalisés avec du sang prélevé sur le pied et 16 % sur du sang fémoral. Pour les micro-tubes, 37,5 % ont été réalisés avec du sang prélevé sur le pied et 60,42 % sur du sang fémoral.

Au temps de prélèvement T2, 60 % des Mitras ont été réalisés avec du sang prélevé sur le pied et 19 % sur du sang fémoral. Pour les micro-tubes, 36,6 % ont été réalisés avec du sang prélevé sur le pied et 85,7 % sur du sang fémoral.

Deux des cas ont vu leurs prélèvements effectués sur d'autres sites de prélèvement : un dont les mitras ont été réalisés sur du sang extériorisé du corps, depuis des plaies (le T2 n'a pas été réalisé) ; le deuxième cas a fait l'objet de prélèvements (T1, T2 et classique) sur du sang sous-clavier. Dix des cas prélevés comportent des données manquantes pour les sites de tous leurs prélèvements, et deux des cas comportent une donnée manquante sur le site de prélèvement du microtube T1.

**TABLEAU 1 : SITES DE PRELEVEMENT POUR L'ENSEMBLE DES CORPS PRELEVES EN 2023**

	T1			T2		
	<i>Pied</i>	<i>Fémoral</i>	<i>Autre</i>	<i>Pied</i>	<i>Fémoral</i>	<i>Autre</i>
Mitra	33 (66,0%)	16 (32,0 %)	1* (2,0 %)	30 (60,0 %)	19 (38,0 %)	
Micro-tube	18 (37,5 %)	29 (60,4 %)	1** (2,1 %)	15 (36,6 %)	35 (85,4 %)	1** (2,4 %)

*Données manquantes : 10 cas*

\* sang extériorisé

\*\* sous-clavier

### 3. Site de prélèvements des cas analysés

Concernant la population étudiée les sites de prélèvement sont détaillés dans le Tableau 2. Les répartitions sont similaires à celles de l'ensemble des prélèvements réalisés avec une majorité de mitras réalisés sur le pied et une majorité de micro-tubes réalisés sur du sang fémoral. Il existe, comme pour l'ensemble des corps prélevés, une proportion légèrement plus élevée de prélèvements réalisés sur le pied au temps T1 par rapport au T2 pour les mitras et les micro-tubes. Six des cas prélevés comportent des données manquantes pour les sites de tous leurs prélèvements et un des cas comporte une donnée manquante sur le site de prélèvement du micro-tube T1.

**TABLEAU 2 : SITES DES PRELEVEMENTS AYANT ETE ANALYSES EN TOXICOLOGIE**

	T1			T2		
	<i>Pied</i>	<i>Fémoral</i>	<i>Autre</i>	<i>Pied</i>	<i>Fémoral</i>	<i>Autre</i>
Mitra	18 (77,8 %)	4 (22,2 %)		17 (73,7 %)	6 (26,3 %)	
Micro-tube	5 (26,3 %)	14 (73,6 %)	1** (5,26 %)	5 (22,7 %)	17 (77,3 %)	1** (4,5 %)

*Données manquantes : 7 cas*

\*\* sous-clavier

#### 4. Caractéristiques de la population étudiée

La moyenne d'âge des cas ayant bénéficié d'une analyse toxicologique de ses prélèvements est de 40,67 ans (médiane 41 ans et écart type de 14,78 ans). On décompte 27 hommes pour 8 femmes (sexe ratio H/F : 3,3,75).

Le  $\Delta$  T1-T2 est en moyenne de 44,86 heures (médiane : 28 heures 22 minutes ; écart type : 28 heures 05 min).

Le DPM avant la réalisation du premier prélèvement (T1) en 2023 est de 41 heures 15 minutes en moyenne (médiane : 34 h ; écart type : 21 h 47 min)

#### 5. Résultats toxicologiques

Le Tableau 3 résume les substances exogènes trouvées sur les 35 cas prélevés, indifféremment du type de prélèvement ayant permis leur mise en évidence. 29 étaient positifs à l'alcool (éthanol et/ou un de ses biomarqueurs de consommation) ; 19 des cas étaient positif à un médicament psychotrope (antidépresseur, antipsychotique ou benzodiazépine) 9 des cas étaient positifs pour la Cocaïne, 8 pour la Méthadone, 3 pour l'Héroïne et 3 pour le Tramadol. 22 des cas présentaient plusieurs de ces molécules en même temps. Cette répartition est résumée sur la Figure 6.



Enfin, deux des cas ne présentaient aucune des substances sus-décrites. D'autres substances médicamenteuses ont également été mises en évidence lors de l'analyse (antidiabétiques, antibiotiques, bêtabloquants...). Elles ne seront pas décrites ici.

## 6. Résultats toxicologiques par molécule

L'ensemble des concentrations par molécule est répertorié avec les DPM et les  $\Delta T1-T2$  en Annexe 1.

### 6.1 Alcool

Les résultats de l'Anova pour chaque molécule sont répertoriés en Annexe 2. Seuls les tests statistiques des effectifs comportant plus de 10 cas sont présentés dans cette partie.

#### 6.1.2 Ethanol

L'analyse de la variance univariée pour l'éthanolémie ne met pas en évidence de différence significative entre les trois groupes de prélèvement.

**TABLEAU 4 : TABLEAU RENDANT COMPTE DE L'ANALYSE DE LA VARIANCE POUR L'ETHANOLEMIE**

	Nombre de cas	Moyenne	Variance	p-value	F	Valeur Critique F
				0,9879	0,0121	3,4221
Ethanolémie T1	11	1,7	1,6069			
Ethanolémie T2	11	1,9	1,6642			
Ethanolémie classique	13	1,8	1,4713			

L'analyse de la variance multivariée sur les trois groupes de prélèvements prenant en compte les deux groupes de  $\Delta T1-T2$  (inférieur à 48 h et supérieur à 48 h)

ne montre pas de différence significative. Un des cas (n°26) a été exclu de cette dernière analyse en raison d'une donnée manquante sur son  $\Delta$  T1-T2.

**TABLEAU 5 : L'ANALYSE DE LA VARIANCE A 2 FACTEURS POUR L'ETHANOLEMIE**  
**microtube T1    microtube T2    tube classique    Total**

**<48h**

Nombre d'échantillons	5	5	5	15
Moyenne	2,086	2,278	2,096	2,1533
Variance	1,9156	2,8364	1,8793	1,9030

**>= 48h**

Nombre d'échantillons	5	5	5	15
Moyenne	1,594	1,384	1,574	1,5173
Variance	1,4920	0,7319	1,4215	1,0511

**Total**

Nombre d'échantillons	10	10	10
Moyenne	1,84	1,831	1,835
Variance	1,5817	1,8079	1,5427

**ANALYSE DE VARIANCE**

<i>Source des variations</i>	<i>Degré de liberté</i>	<i>F</i>	<i>p-value</i>	<i>Valeur critique pour F</i>
Temps	1	1,771184363	0,195741853	4,259677273
Prélèvement	2	0,000118713	0,999881295	3,402826105
Interaction	2	0,073195082	0,929626157	3,402826105

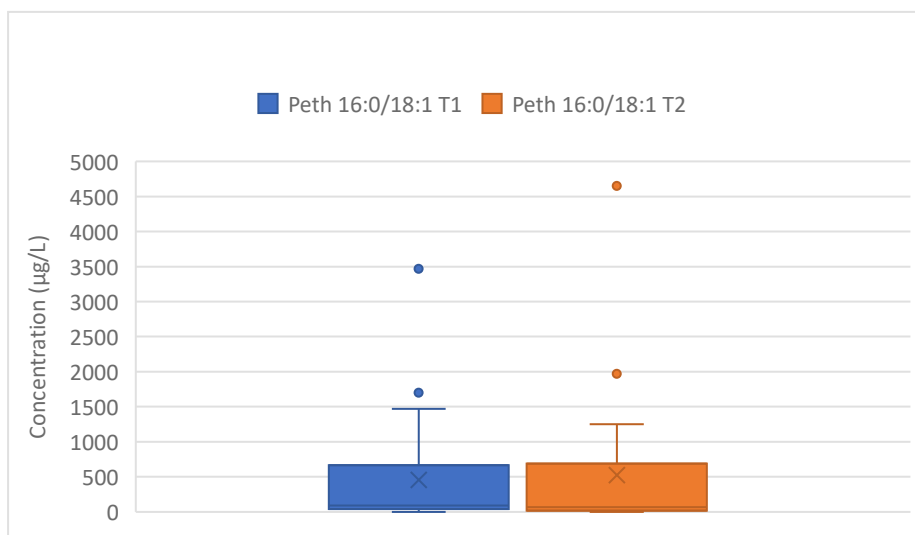
### 6.1.3 Peth 16:0/18:0

Il n'existe pas de différence significative entre les concentrations de Peth 16:0 / 18:1 du mitra T1 et du mitra T2. Les moyennes et variances des deux temps de prélèvement sont représentées Figure 7.

**TABLEAU 6 : CORRELATION ENTRE LES CONCENTRATIONS DES MITRAS T1 ET T2 DES PETH 16 :0/18 :1**

	<i>Peth 16:0/18:1 T1</i>	<i>Peth 16:0/18:1 T2</i>
Moyenne	470,5185	544,6296
Variance	588 589,6439	999 850,8575
Observations	27	27
Degré de liberté	26	26
F	0,5886	
P(F<=f) unilatéral	0,0916	
Valeur critique pour F (unilatéral)	0,5183	

**FIGURE 7 : BOX-PLOT DE COMPARAISON DES MOYENNES DES CONCENTRATIONS DES PETH 16:0/18 :1**



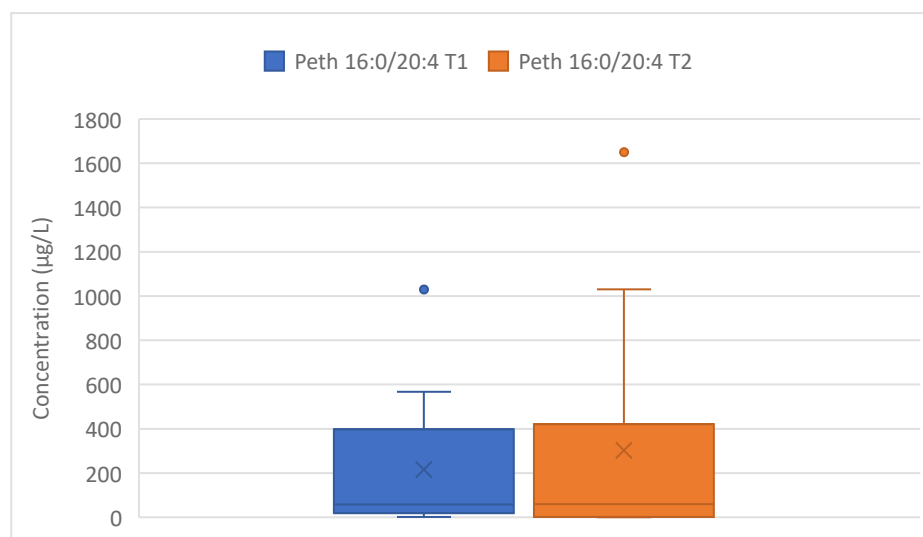
#### 6.1.4 Peth 16:0/24:0

Il n'existe pas de différence significative entre les concentrations de Peth 16:0/24:0:1 du mitra T1 et du mitra T2. Les moyennes et variances des deux temps de prélèvement sont représentées Tableau 7.

**TABLEAU 7 : CORRELATION ENTRE LES CONCENTRATIONS DES MITRA T1 ET T2 DES PETH 16:0/24:0:1**

	<i>Peth 16:0/20:4 T1</i>	<i>Peth 16:0/20:4 T2</i>
Moyenne	216,25	302,333
Variance	100 151,1136	27 1949,5152
Observations	12	12
Degré de liberté	11	11
F	0,3682	
P(F<=f) unilatéral	0,0561	
Valeur critique pour F (unilatéral)	0,3548	

**FIGURE 8 : BOX-PLOT DE COMPARAISON DES MOYENNES DES CONCENTRATIONS DES PETH 16:0/20:1**



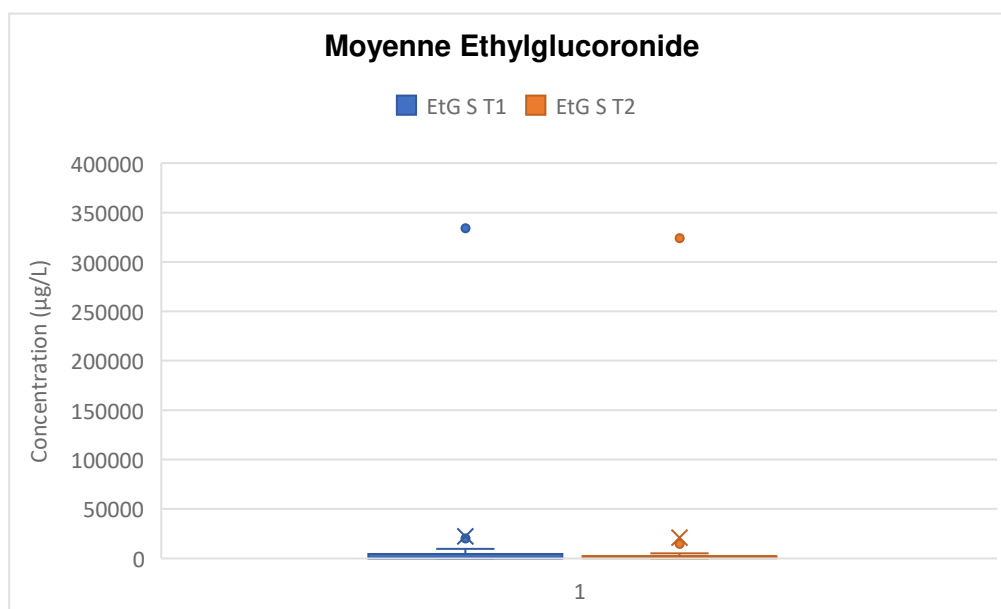
### 6.1.5 Ethylglucoronide

Il n'existe pas de différence significative entre les concentrations d'éthylglucoronide du mitra T1 et du mitra T2. Les moyennes et variances des deux temps de prélèvement sont représentées Figure 9.

**TABLEAU 8 : CORRELATION ENTRE LES CONCENTRATIONS DE L'ETHYLGLUCORONIDE DES MITRA T1 ET T2**

	<i>EtG S T1</i>	<i>EtG S T2</i>
	22	
Moyenne	269,17	20 862,88
Variance	6 480 095 178	6 114 694 297
Observations	17	17
Degré de liberté	16	16
F	1,0597	
P(F<=f) unilatéral	0,4545	
Valeur critique pour F (unilatéral)	2,3334	

**FIGURE 9 : BOX-PLOT DE COMPARAISON DES MOYENNES DES CONCENTRATIONS D'ETHYLGLUCORONIDE**



## 6.2 Opiacés

### 6.2.1 Morphine

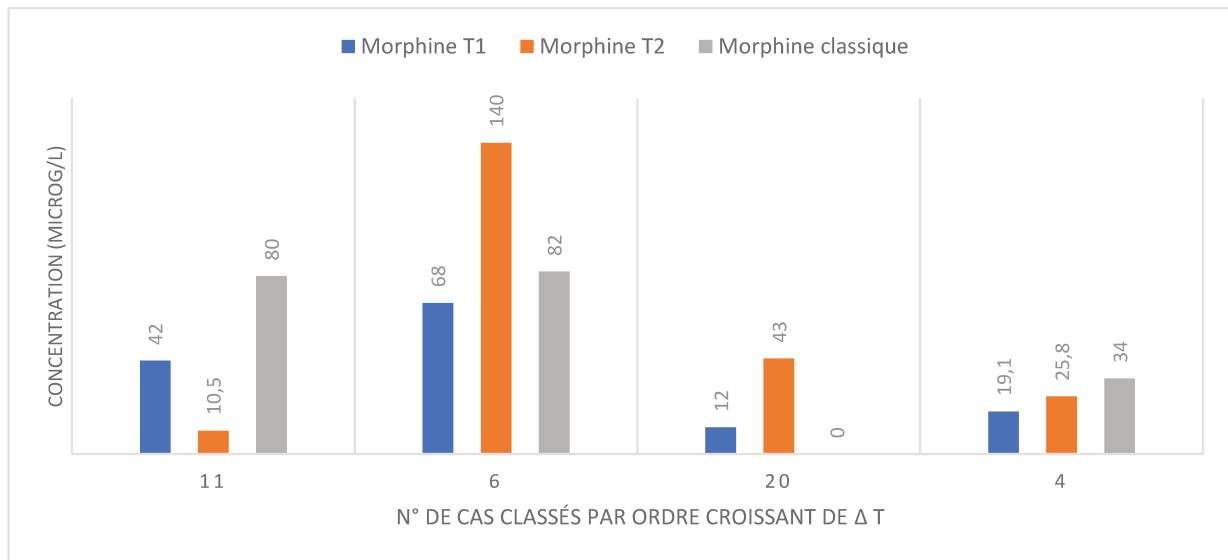
On observe pour la Morphine une tendance générale à l'augmentation entre T1 et T2. Seul un des quatre cas de notre effectif déroge à ce constat (n°11). Il se démarque comme le seul ayant été prélevé sur sang fémoral, tandis que deux autres ont été prélevés sur les doigts (n°6 et 4) et un sur une veine du pied (n°20), et aussi comme celui ayant le DPM le plus important (81 h) (Voir Annexe 1).

**TABLEAU 9 : COMPARAISON GENERALE DES CONCENTRATIONS DE MORPHINE**

Morphine	Nombre d'échantillons	Moyenne	Variance
Morphine T1	4	35,275	639,83
Morphine T2	4	54,825	3 400,58
Morphine classique	4	49	1 558,66

L'observation des moyennes des Morphines au T2 montre une concentration en moyenne plus élevée sur le Mitra en comparaison au tube sanguin avec beaucoup de disparités au cas par cas. Le cas n°11 présente ainsi une concentration moins élevée sur le mitra, pour un échantillon de sang prélevé aux mêmes temps et site que celui du prélèvement sur tube fluoré : site fémoral, alors que les quatre autres cas ont été prélevés sur sang capillaire ou sur une veine du pied.

**FIGURE 10 : VARIATIONS INDIVIDUELLES DE CONCENTRATION DE MORPHINE**



### 6.2.2 Codéine

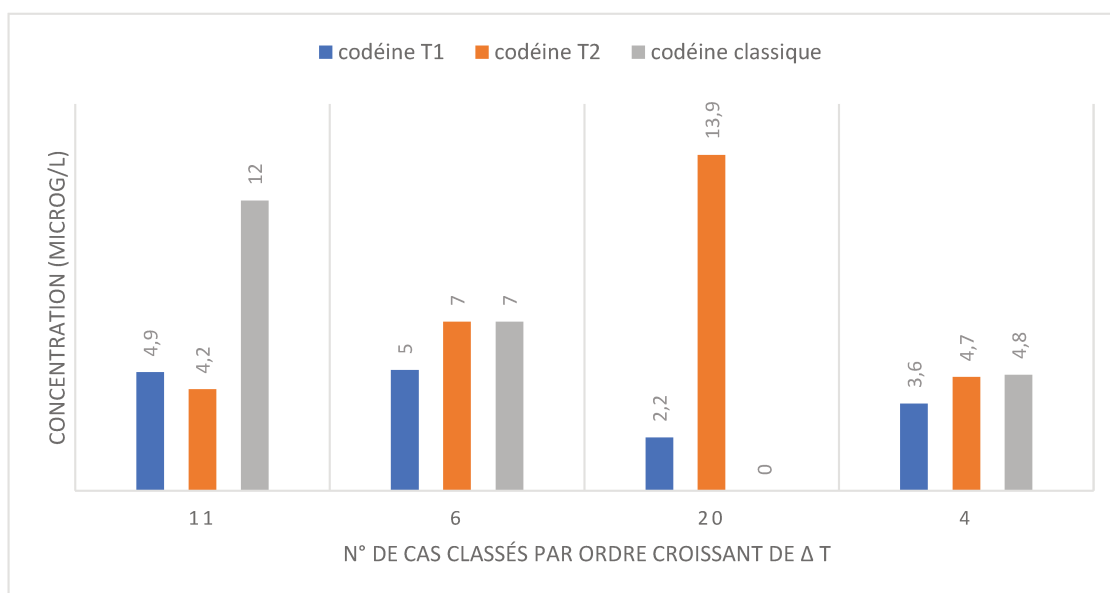
On observe pour la Codéine des concentrations très équivalentes entre T1 et T2. L'augmentation moyenne des concentrations au T2 est portée par le cas n° 20.

**TABLEAU 10 : COMPARAISON GENERALE DES CONCENTRATIONS DE CODEINE**

Codéine	Nombre d'échantillons	Moyenne	Variance
Codéine T1	4	3,925	1,72
Codéine T2	4	7,45	19,97
Codéine classique	4	5,95	24,81

Entre le prélèvement mitra et le classique, les concentrations générales sont équivalentes avec des répartitions individuelles plus contrastées : la moitié des cas marquent tout de même des concentrations identiques ; les deux autres contrebalancent en proportion leurs sens de variations de concentration opposées.

**FIGURE 11 : VARIATIONS INDIVIDUELLES DES CONCENTRATIONS DE CODEINE**



### 6.2.3 6-MonoacétylMorphine

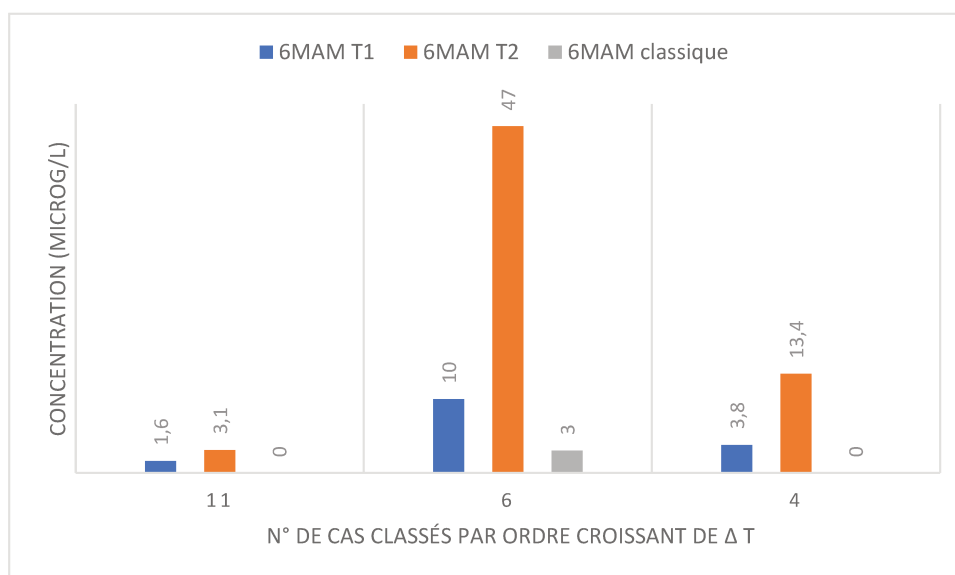
On observe une augmentation de la concentration de 6-MAM entre T1 et T2 pour les trois cas de notre étude.

**TABLEAU 11 : COMPARAISON GENERALE DES CONCENTRATIONS DE 6-MAM**

6-MAM	Nombre d'échantillons	Moyenne	Variance
6-MAM T1	3	5,1333	18,97
6-MAM T2	3	21,166	527,04
6-MAM classique	3	1	3

La moyenne des concentrations de 6-MAM sur tube est très inférieure à celle des concentrations sur mitra avec des concentrations non détectées pour deux des trois cas.

**FIGURE 12 : VARIATIONS INDIVIDUELLES DES CONCENTRATIONS DE 6-MAM**



### 6.3 Méthadone et métabolites

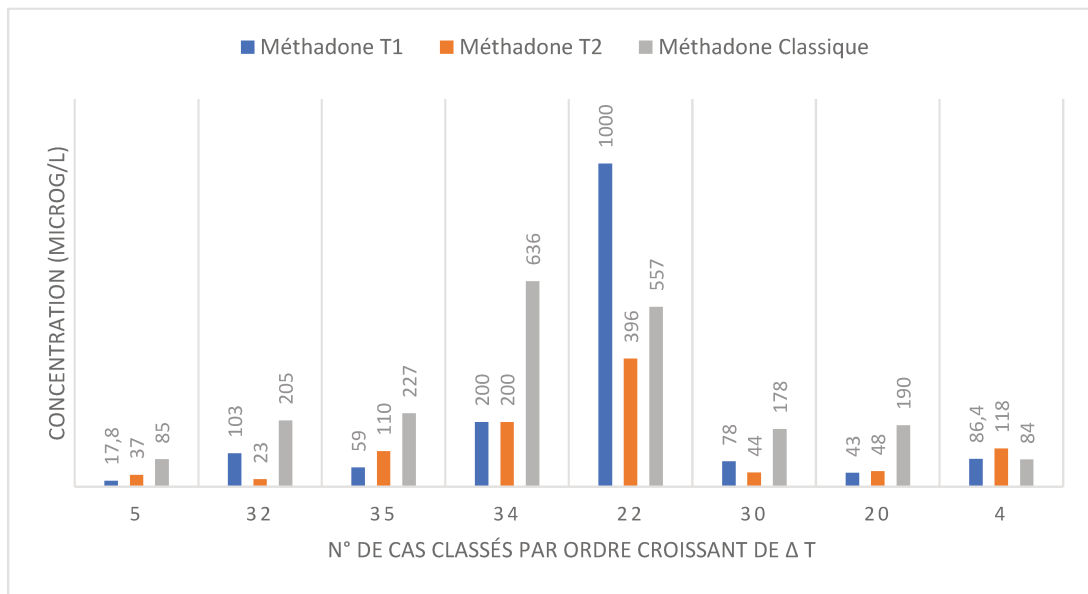
Le cas n°22 montre une baisse hors de proportion des autres cas, faisant chuter la moyenne générale du T2 en comparaison au T1. En regardant l'ensemble des résultats, on trouve des concentrations équivalentes de Méthadone entre le T1 et le T2.

**TABLEAU 12 : COMPARAISON GENERALE DES CONCENTRATIONS DE METHADONE**

Méthadone	Nombre d'échantillons	Moyenne	Variance
Méthadone T1	8	198,4	10 7843,474
Méthadone T2	8	122	15 700,8571
Méthadone classique	8	270,25	43 726,2143

On observe une tendance globale à des concentrations plus élevées dans les échantillons sur tube fluoré pour la Méthadone et son métabolite, à l'exception du cas n°21/114.

**FIGURE 13 : VARIATIONS INDIVIDUELLES DES CONCENTRATIONS DE METHADONE**

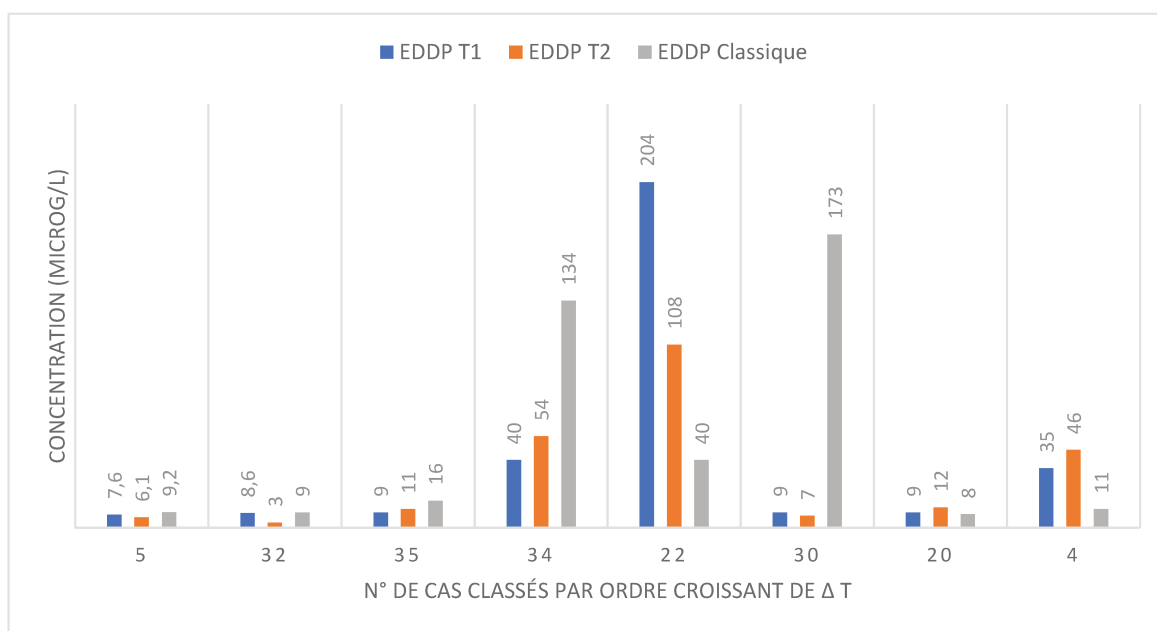


Concernant les variations de concentration de l'EDPP, le cas n°22 fait chuter la moyenne générale du T2 en comparaison au T1 comme pour la Méthadone. Les concentrations observées sont équivalentes et considérées comme nulles en termes de toxicologie analytique et d'un point de vue médico-légal.

**TABLEAU 13 : COMPARAISON GENERALE DES CONCENTRATIONS D'EPP**

EDDP	Nombre d'échantillons	Moyenne	Variance
EDDP T1	8	40,275	4 548,44
EDDP T2	8	30,8875	1 346,27
EDDP Classique	8	50,025	4 295,94

**FIGURE 14 : VARIATIONS INDIVIDUELLES DES CONCENTRATIONS D'EDDP**



On observe une tendance globale à des concentrations plus élevées dans les échantillons sur tube fluoré pour l'EDDP, à l'exception des cas n°21/114 et n°22.

## 6.4 Tramadol et ses métabolites

### 6.4.1 Tramadol

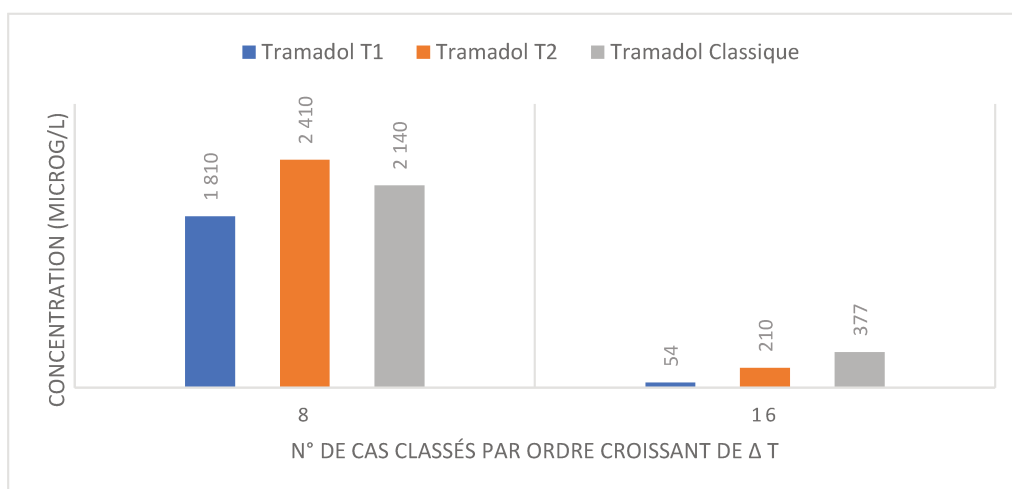
On observe pour les deux cas de notre étude une augmentation du Tramadol et de ses métabolites entre le T1 et le T2.

**TABLEAU 14 : COMPARAISON GENERALE DES CONCENTRATIONS DE TRAMADOL**

Tramadol	Nombre d'échantillons	Moyenne	Variance
Tramadol T1	2	932	154 1768
Tramadol T2	2	1310	2 420 000
Tramadol classique	2	1 258,5	1 554 084,5

Pour la comparaison entre le mitra et le tube floré, les deux cas montrent des résultats opposés : une augmentation pour l'un et une diminution pour l'autre.

**FIGURE 15 : VARIATIONS INDIVIDUELLES DES CONCENTRATIONS DE TRAMADOL**



\*Le cas n°14 est exclu de cette figure en histogramme du fait de ses concentrations à l'état de présence

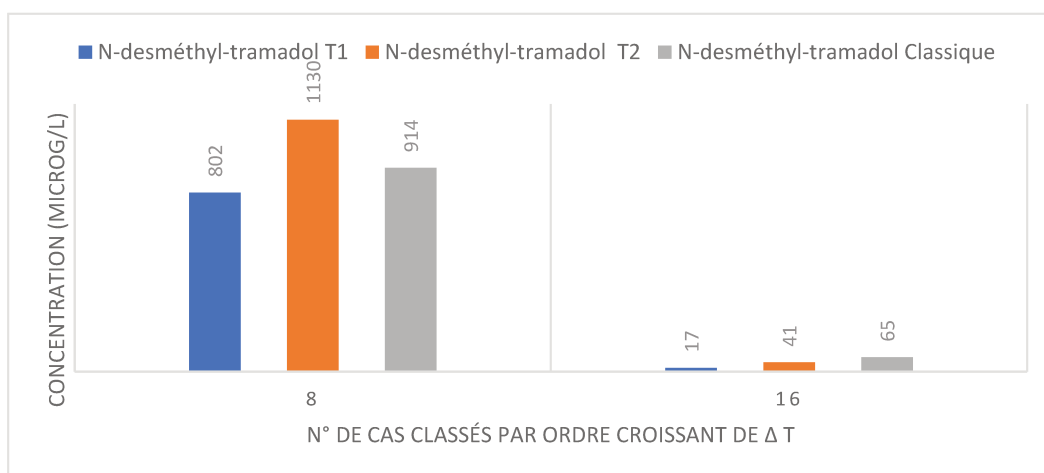
### 6.3.2 N-desméthyl-tramadol

Les variations observées pour le N-desméthyl-tramadol entre T1 et T2 sont superposables à celles du Tramadol.

**TABLEAU 15 : COMPARAISON GENERALE DES CONCENTRATIONS DE N-DESMETHYL-TRAMADOL**

N-desméthyl-tramadol	Nombre d'échantillons	Moyenne	Variance
N-desméthyl-tramadol T1	3	273,166667	209 816,583
N-desméthyl-tramadol T2	3	390,5	410 555,25
N-desméthyl-tramadol classique	3	326,5	259 907,25

**FIGURE 16 : VARIATIONS INDIVIDUELLES DES CONCENTRATIONS DE N-DESMETHYL-TRAMADOL**



Le cas n°14 est exclu de la présentation en histogramme du fait de ses concentrations à l'état de présence.

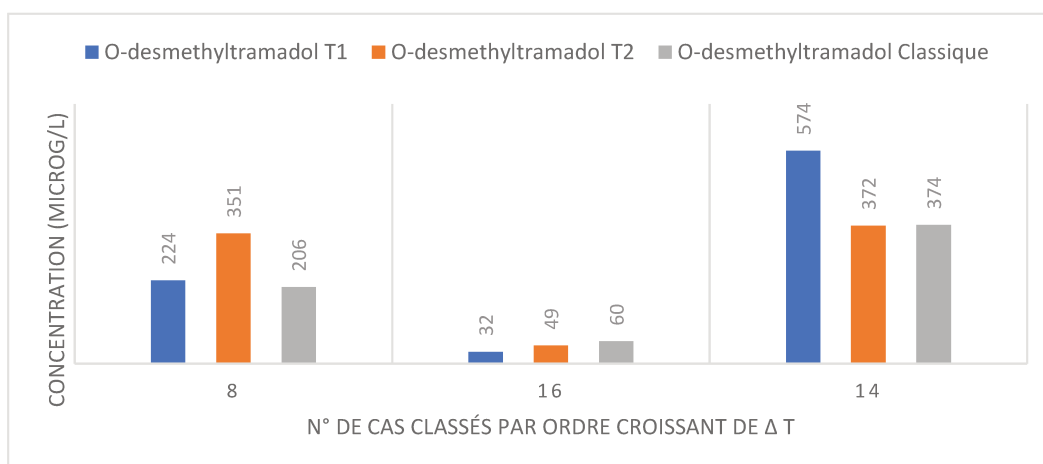
#### 6.4.3 O-desméthyl-tramadol

Concernant le O-desméthyl-tramadol, les comparaisons générales et individuelles mettent en évidence des concentrations équivalentes sur les trois prélèvements effectués avec des sens de variations non systématiques d'un cas à l'autre.

**TABLEAU 16 : COMPARAISON GENERALE DES CONCENTRATIONS DE O-DESMETHYL-TRAMADOL**

O-desmethyltramadol	Nombre d'échantillons	Moyenne	Variance
O-desmethyltramadol T1	3	276,66	7 5521,33
O-desmethyltramadol T2	3	257,33	32 662,33
O-desmethyltramadol classique	3	213,33	24 689,33

**FIGURE 17 : VARIATIONS INDIVIDUELLES DE CONCENTRATION DE O-DESMETHYL-TRAMADOL**



## 6.5 Cocaïne et ses métabolites

Après l'inclusion de 2021, le cas 5 marquait des concentrations aberrantes au T1 comparées au T2, mettant en évidence une contamination des doigts du défunt qui a motivé le changement de site de prélèvement entre 2021 et 2023. Il est exclu du calcul des moyennes et de l'Anova. Ses concentrations figurent dans l'Annexe 1.

### 6.5.1 Cocaïne

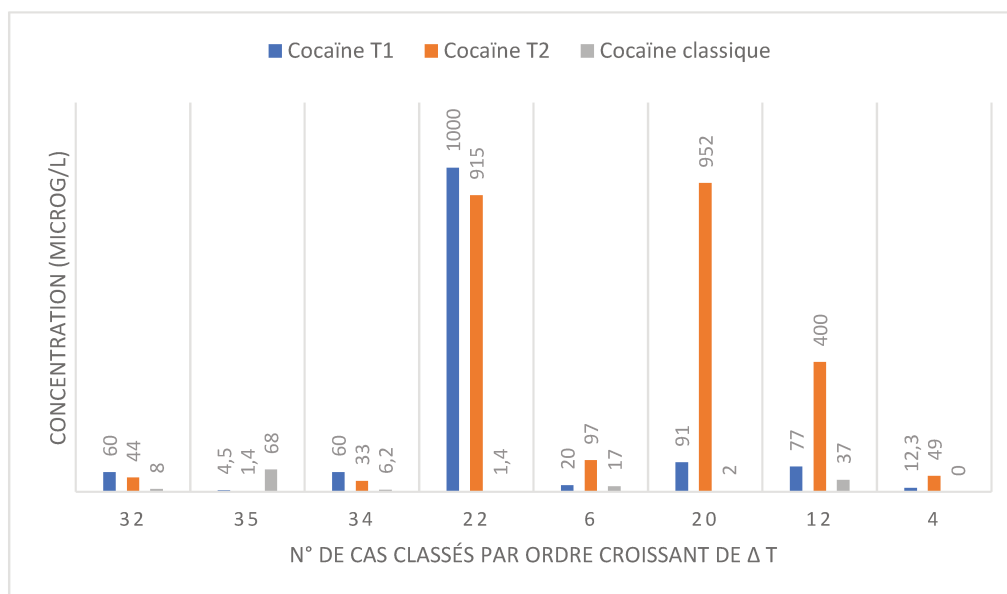
On observe une tendance à l'augmentation des concentrations de cocaïne entre T1 et T2 avec une répartition individuelle contrastée : 4 cas sur 8 sont en hausse et 4 cas sont en baisse. On note une démarcation entre ces deux groupes : les 4 premiers ont tous un  $\Delta$  T1-T2 inférieur à 48 h [517h-45,5h], les quatre derniers ont tous un  $\Delta$  T supérieur à 48 h [63,5-119h] (Voir Annexe 1). C'est la forte augmentation des concentrations pour ces quatre derniers cas, décuplant pour le cas n°20 et quadruplant pour le cas n°12, qui fait basculer la moyenne générale des variations de consommation.

**TABLEAU 17 : COMPARAISON GENERALE DES CONCENTRATIONS DE COCAÏNE**

Cocaïne	Nombre d'échantillons	Moyenne	Variance
Cocaïne T1	8	165,6	114 656,38
Cocaïne T2	8	311,425	163 211,67
Cocaïne classique	8	17,45	564,91

Au regard de l'écart observable entre les moyennes et variances du prélèvement T2 et du prélèvement classique, nous relevons des concentrations de cocaïne fortement inférieures sur le prélèvement classique. Le cas n°214, dont les échantillons ont été analysé deux ans après les prélèvements, se relève même négatif pour la cocaïne sur son prélèvement classique.

**FIGURE 18 : VARIATIONS INDIVIDUELLES DES CONCENTRATIONS DE COCAÏNE**



### 6.5.2 Métabolites de la cocaïne

Le cas n°22 montre une baisse de la concentration d'EME hors de proportion des autres cas, faisant chuter la moyenne générale du T2 en comparaison au T1. Les

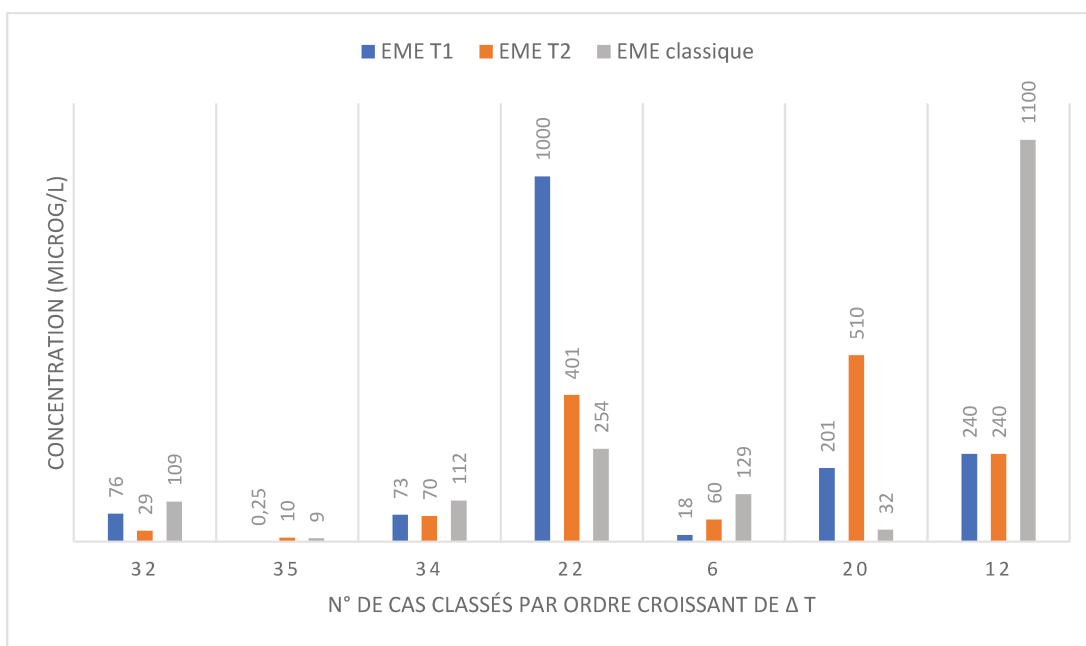
variations de concentration des autres cas sont plus disparates mais sont dans l'ensemble relativement minimales, voire équivalentes.

**TABLEAU 18 : COMPARAISON GENERALE DES CONCENTRATIONS D'EME**

EME	Nombre d'échantillons	Moyenne	Variance
EME T1	7	229,75	123 322,43
EME T2	7	188,57	39 837,95
EME classique	7	249,28	146 947,23

Les concentrations d'EME observées sont en moyenne supérieures dans le tube fluoré. Seuls les cas n°20 et 22 dérogent à cette tendance.

**FIGURE 19 : VARIATIONS INDIVIDUELLES DES CONCENTRATIONS D'EME**



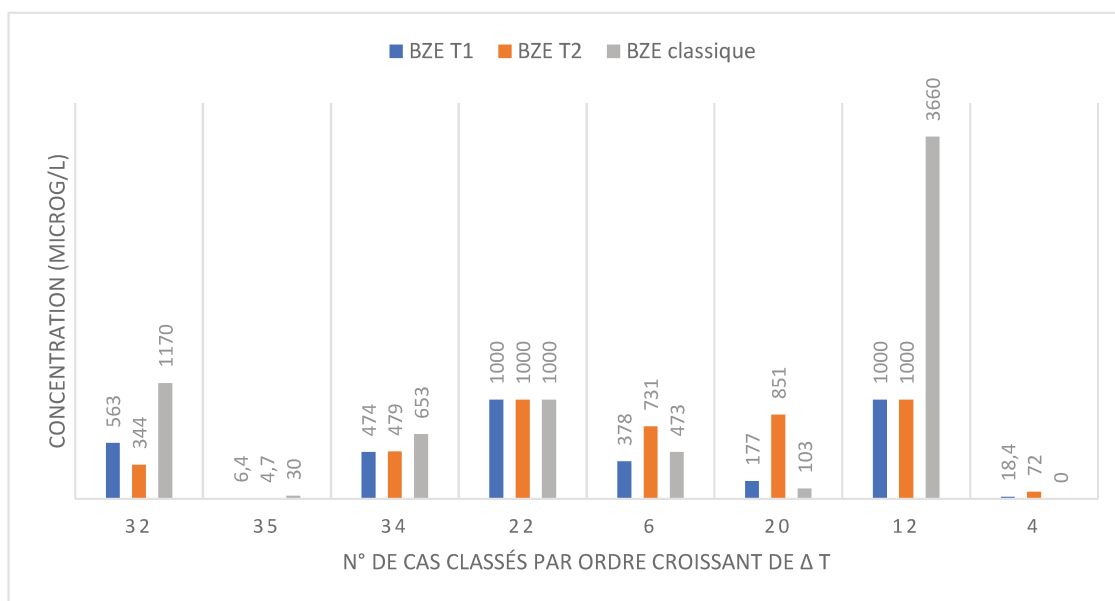
Les concentrations de BZE sont également équivalentes entre le T1 et le T2, avec deux cas sur 8 augmentant la moyenne du prélèvement T2.

**TABLEAU 19 : COMPARAISON GENERALE DES CONCENTRATIONS DE BZE**

BZE	Nombre d'échantillons	Moyenne	Variance
BZE T1	8	452,10	154 440,32
BZE T2	8	560,21	157 262,961
BZE classique	8	886,12	1 449 200,98

Les variations de BZE entre le Mitra et le tube fluoré sont plus contrastées tant dans leur sens que dans leur proportion. Le cas n°12 fait basculer la moyenne des prélèvements sur tube fluoré.

**FIGURE 20 : VARIATIONS INDIVIDUELLES DES CONCENTRATIONS DE BZE**

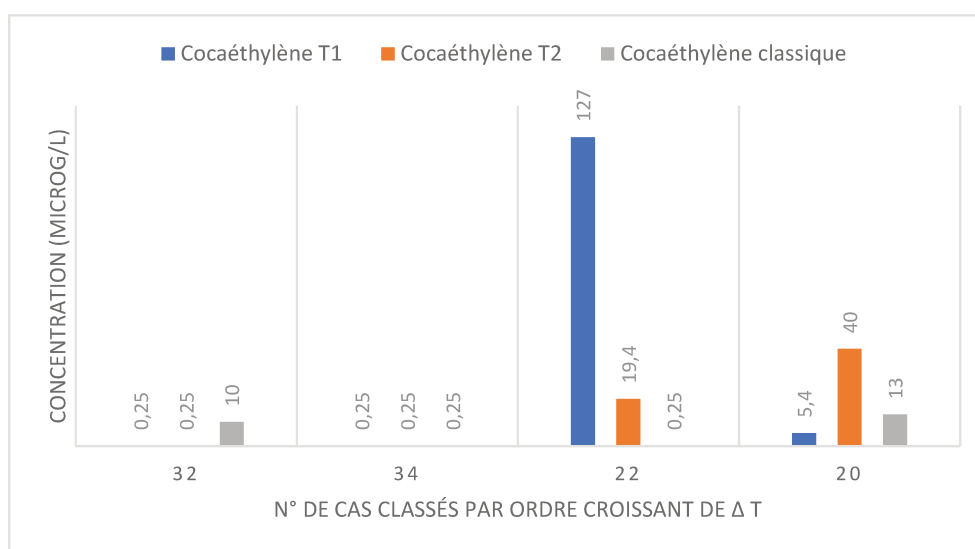


Concernant le Cocaéthylène, les variations entre le T1 et le T2 et entre le mitra et les tubes fluorés sont inverses pour les deux cas ayant des concentrations suffisantes pour permettre ces observations.

**TABLEAU 20 : COMPARAISON GENERALE DES CONCENTRATIONS DE COCAETHYLENE**

Cocaéthylène	Nombre d'échantillons	Moyenne	Variance
Cocaéthylène T1	4	33,225	3 914,22
Cocaéthylène T2	4	14,975	359,82
Cocaéthylène classique	4	5,875	43,68

**FIGURE 21 : VARIATIONS INDIVIDUELLES DES CONCENTRATIONS DE COCAETHYLENE**



## 6.6 Cannabis et ses métabolites

Les concentrations moyennes du THC et ses métabolites sont équivalentes et considérées comme identiques en toxicologie analytique.

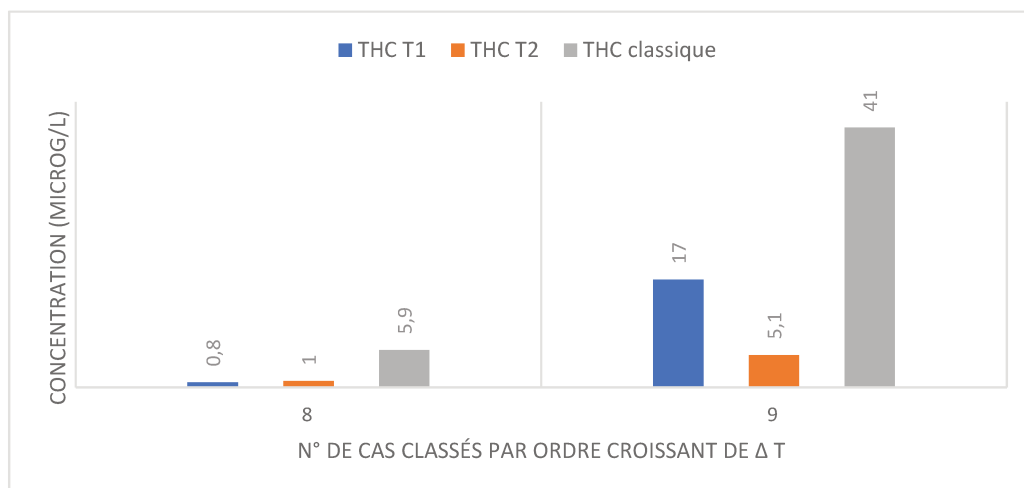
Les concentrations moyennes du THC et de ses métabolites sont toutes plus élevées sur le tube fluoré que sur le mitra.

### 6.6.1 THC

**TABLEAU 21 : COMPARAISON GENERALE DES CONCENTRATIONS DE THC**

THC	Nombre d'échantillons	Moyenne	Variance
THC T1	2	8,9	131,22
THC T2	2	3,05	8,405
THC classique	2	23,45	616,005

**FIGURE 22 : VARIATIONS INDIVIDUELLES DES CONCENTRATIONS DE THC**

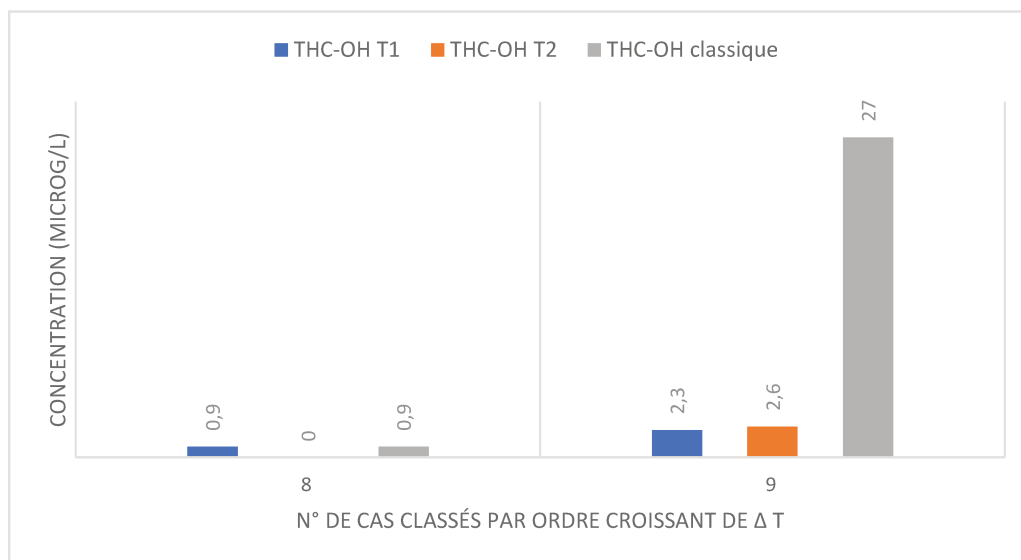


### 6.6.2 THC-OH

**TABLEAU 22 : COMPARAISON GENERALE DES CONCENTRATIONS DE THC-OH**

THC-OH	Nombre d'échantillons	Moyenne	Variance
THC-OH T1	2	1,6	0,98
THC-OH T2	2	1,3	3,38
THC-OH classique	2	13,95	340,605

**FIGURE 23 : VARIATIONS INDIVIDUELLES DES CONCENTRATIONS DE THC-OH**

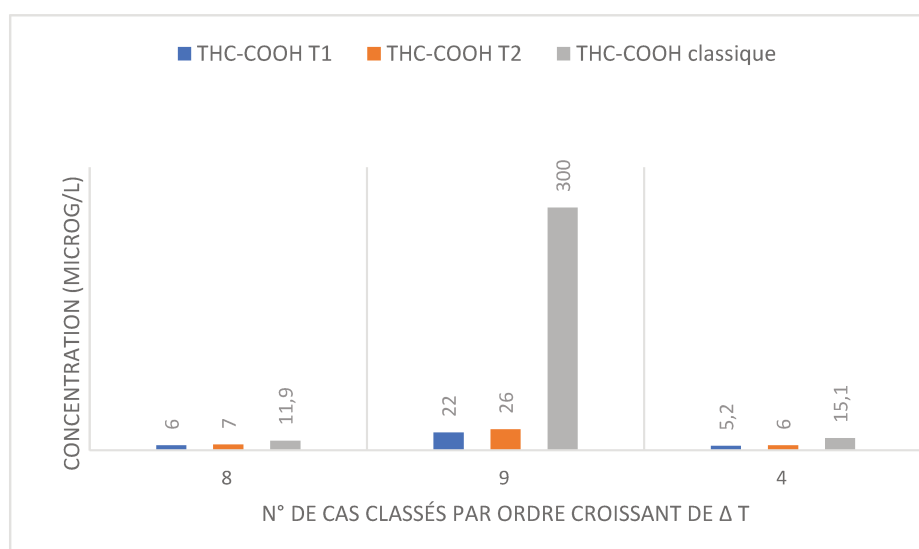


### 6.6.3 THC-COOH

**TABLEAU 23 : COMPARAISON GENERALE DES CONCENTRATIONS DE THC-COOH**

THC-COOH	Nombre d'échantillons	Moyenne	Variance
THC-COOH T1	3	11,066	89,8133
THC-COOH T2	3	13	127
THC-COOH classique	3	109	27363,31

**FIGURE 24 : VARIATIONS INDIVIDUELLES DES CONCENTRATIONS DE THC-COOH**



## 6.7 Benzodiazépines

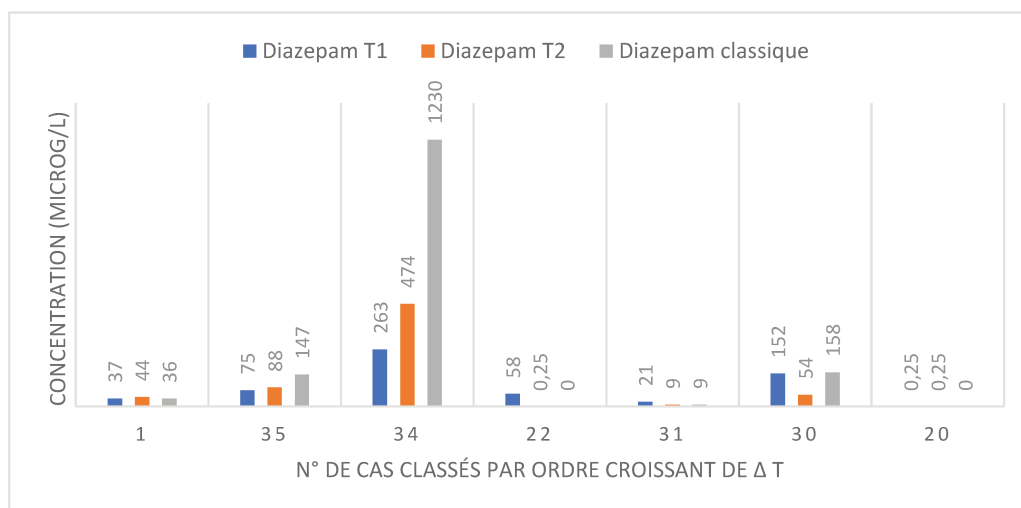
Entre T1 et T2, les variations de l'ensemble des benzodiazépines sont relativement faibles en proportion, avec des sens de variation non systématiques. Les moyennes permettant de comparer les concentrations entre T1 et T2 sont d'autant plus équivalentes que les effectifs sont importants.

Pour la plupart des benzodiazépines de notre étude, on observe des concentrations individuelles systématiquement inférieures sur le tube fluoré, voire non détectées. Seuls le Diazépam et le Nordazépam présentent des concentrations moyennes équivalentes entre le Mitra et le tube fluoré, avec des cas de concentrations individuelles parfois supérieures sur le tube fluoré.

**TABEAU 24 : COMPARAISON GENERALE DES CONCENTRATIONS DE DIAZEPAM**

Diazépam	Nombre d'échantillons	Moyenne	Variance
Diazepam T1	7	86,6071	8 427,74
Diazepam T2	7	95,6428	28 886,70
Diazepam classique	7	225,7142	200 703,57

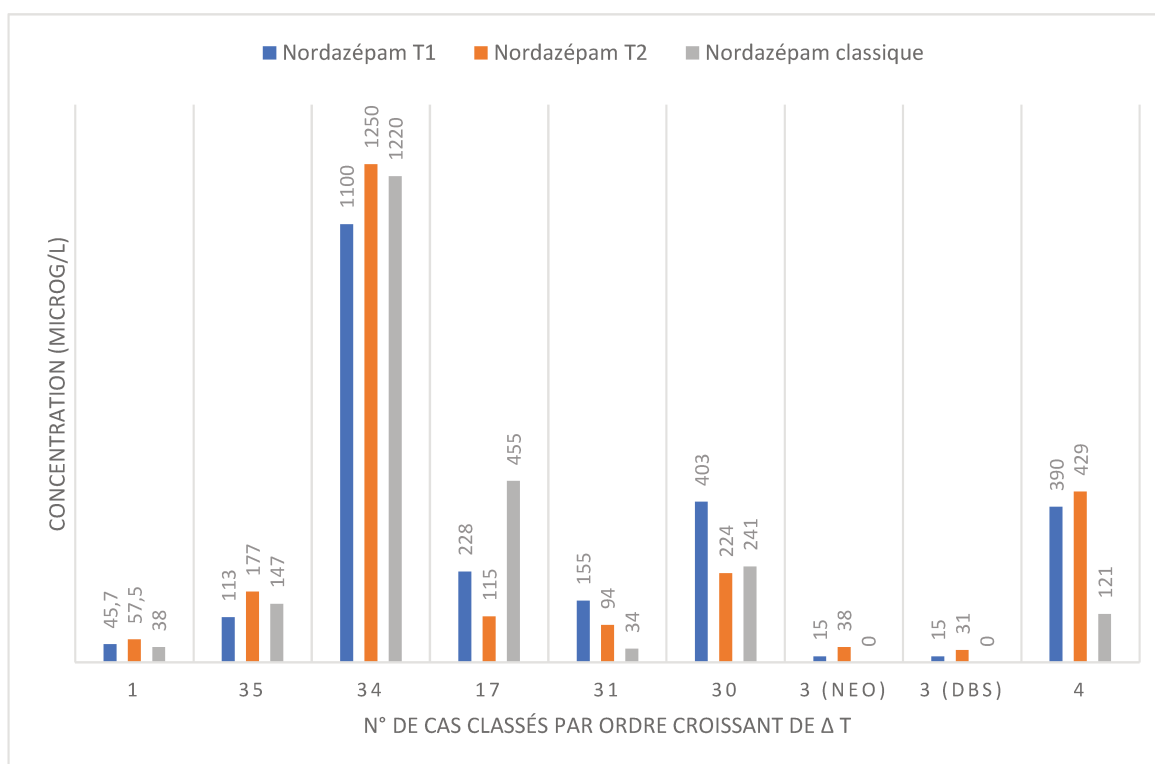
**FIGURE 25 : VARIATIONS INDIVIDUELLES DES CONCENTRATIONS DU DIAZEPAM**



**TABLEAU 25 : COMPARAISON GENERALE DES CONCENTRATIONS DE NORDAZEPAM**

Nordazépam	Nombre d'échantillons	Moyenne	Variance
Nordazépam T1	9	273,855	117 606,71
Nordazépam T2	9	268,388	150 940,61
Nordazépam classique	9	250,666	153 356,50

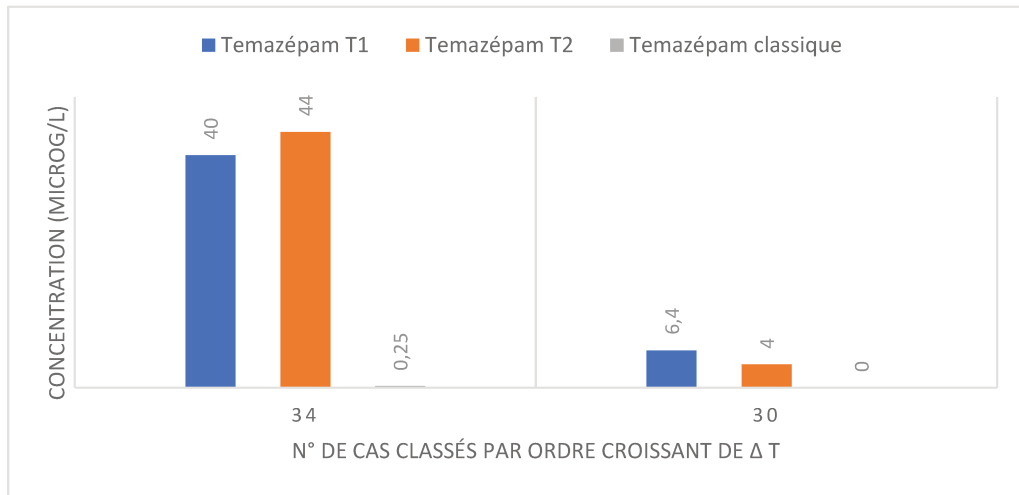
**FIGURE 26 : VARIATIONS INDIVIDUELLES DES CONCENTRATIONS DE NORDAZEPAM**



**TABLEAU 26 : COMPARAISON GENERALE DES CONCENTRATIONS DE TEMAZEPAM**

Temazépam	Nombre d'échantillons	Moyenne	Variance
Temazépam T1	2	23,2	564,48
Temazépam T2	2	24	800
Temazépam classique	2	0,125	0,03125

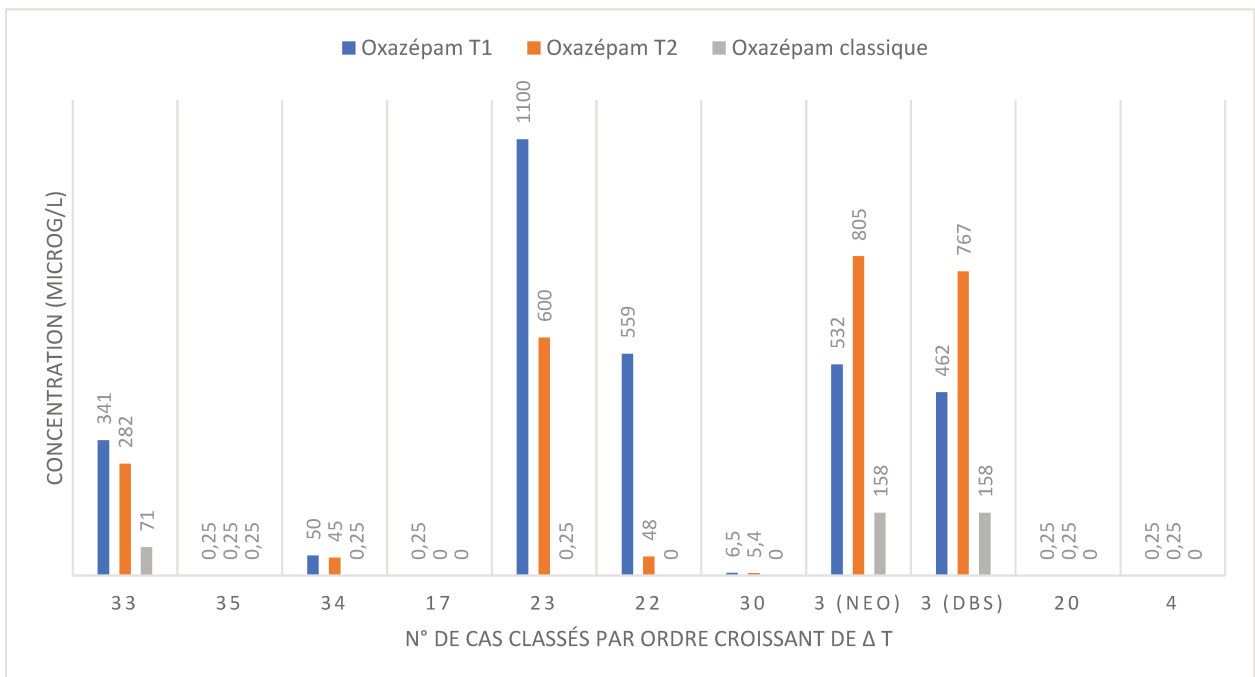
**FIGURE 27 : VARIATIONS INDIVIDUELLES DES CONCENTRATIONS DE TEMAZEPAM**



**TABLEAU 27 : COMPARAISON GENERALE DES CONCENTRATIONS D'OXAZEPAM**

Oxazépam	Nombre d'échantillons	Moyenne	Variance
Oxazépam T1	11	277,40	129 125,86
Oxazépam T2	11	232,10	108 759,86
Oxazépam classique	11	35,25	4130,1

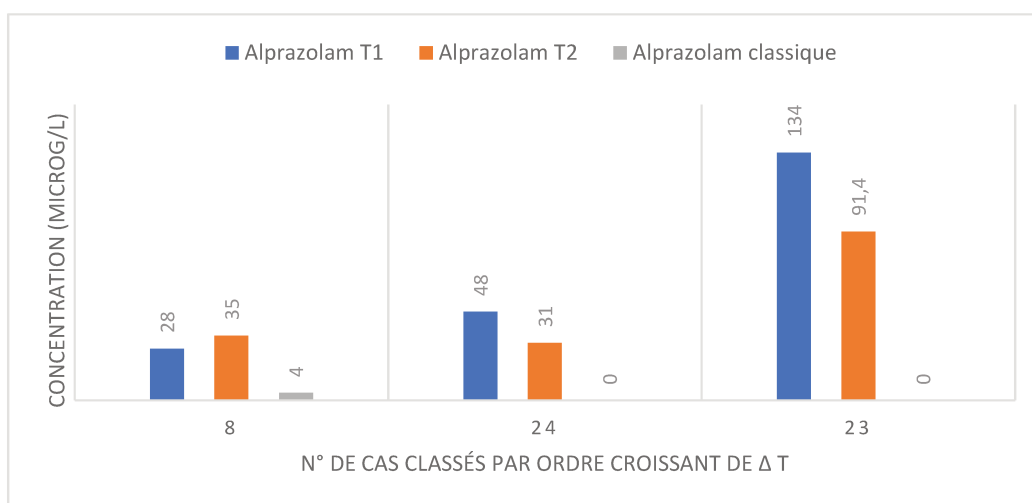
**FIGURE 28 : VARIATIONS INDIVIDUELLES DES CONCENTRATIONS D'OXAZEPAM**



**TABLEAU 28 : COMPARAISON GENERALE DES CONCENTRATIONS D'ALPRAZOLAM**

Alprazolam	Nombre d'échantillons	Moyenne	Variance
Alprazolam T1	3	70	3 172
Alprazolam T2	3	52,46	1 140,85
Alprazolam classique	3	1,33	5,33

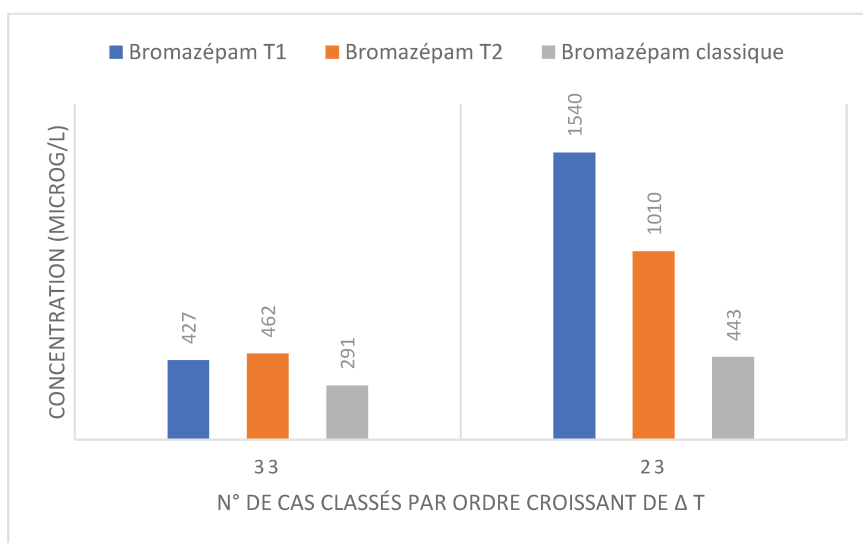
**FIGURE 29 : VARIATIONS INDIVIDUELLES DES CONCENTRATIONS D'ALPRAZOLAM**



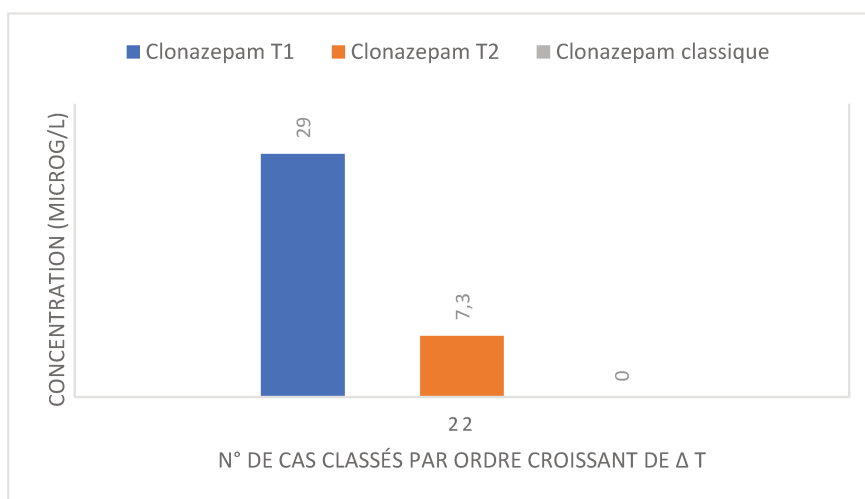
**TABLEAU 29 : COMPARAISON GENERALE DES CONCENTRATIONS DE BROMAZEPAM**

Bromazépam	Nombre d'échantillons	Moyenne	Variance
Bromazépam T1	2	983,5	619 384,5
Bromazépam T2	2	736	150152
Bromazépam classique	2	367	11 552

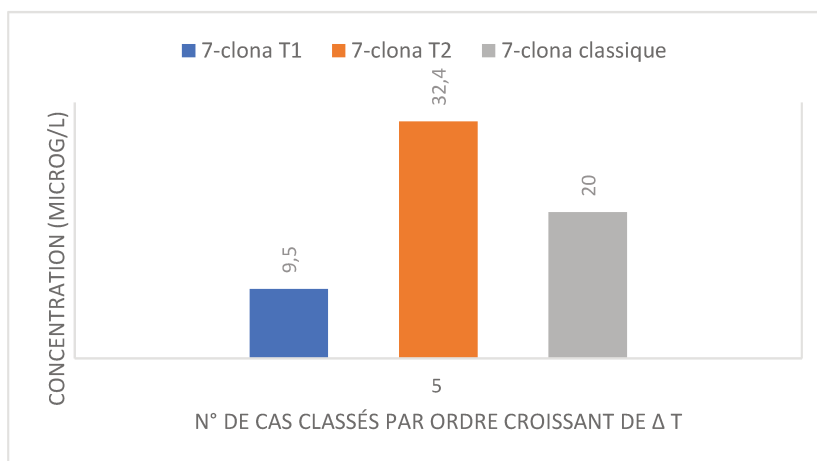
**FIGURE 30 : VARIATIONS INDIVIDUELLES DES CONCENTRATIONS DE BROMAZEPAM**



**FIGURE 31 : VARIATIONS INDIVIDUELLES DES CONCENTRATIONS DE CLONAZEPAM**



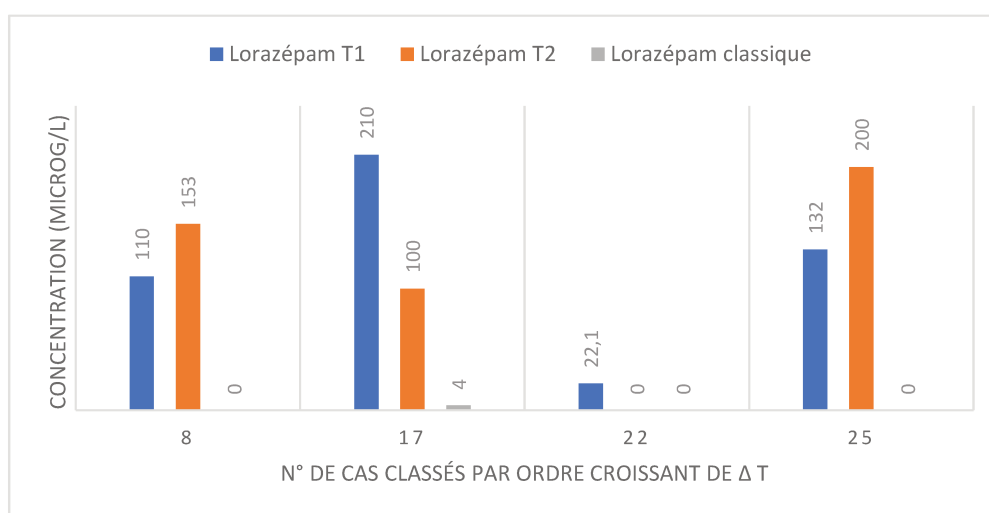
**FIGURE 32 : VARIATIONS INDIVIDUELLES DES CONCENTRATIONS DU 7-CLONAZEPAM**



**TABLEAU 30 : COMPARAISON GENERALE DES CONCENTRATIONS DE LORAZEPAM**

Lorazépam	Nombre d'échantillons	Moyenne	Variance
Lorazépam T1	4	118,525	5 973,23
Lorazépam T2	4	113,25	7 368,916
Lorazépam classique	4	1	4

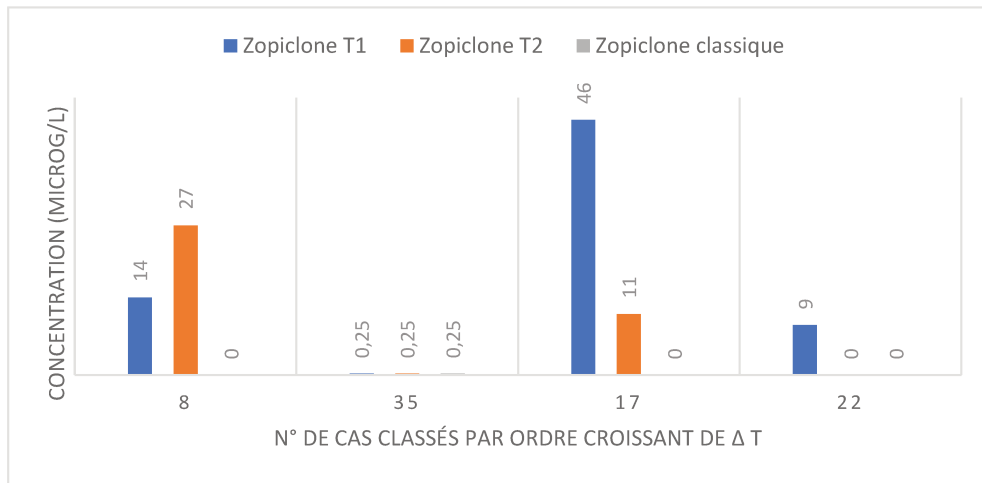
**FIGURE 33 : VARIATIONS INDIVIDUELLES DES CONCENTRATIONS DE LORAZEPAM**



**TABLEAU 31 : COMPARAISON GENERALE DES CONCENTRATIONS DE ZOPICLONE**

Zopiclone	Nombre d'échantillons	Moyenne	Variance
Zopiclone T1	4	17,3125	398,057
Zopiclone T2	4	9,5625	161,43
Zopiclone classique	4	0,0625	0,015

**FIGURE 34 : VARIATIONS INDIVIDUELLES DES CONCENTRATIONS DE ZOPICLONE**



## IV- DISCUSSION

### 1. Le site de prélèvement

#### 1.1 2021 : prélèvements capillaires des doigts

Durant la première phase d'inclusion de notre étude en 2021, les prélèvements par DBS ont été réalisés sur la pulpe des doigts à l'aide d'un auto-piqueur. Il s'agit là d'une modalité de prélèvement novatrice.

Dans les années 1970, les premiers questionnements autour de l'utilisation du sang capillaire, pour le dosage de l'alcoolémie dans un contexte médico-légal chez le sujet vivant, ont fait remonter des inquiétudes quant au fait que le sang puisse être dilué par les fluides lymphatiques lors du prélèvement d'échantillons du bout des doigts (17). Forney et coll. démontrent alors la non-significativité de ce phénomène d'hémodilution, et affirment que les concentrations capillaires se trouveraient plus proches de celles du cerveau qu'avec du sang prélevé par ponction veineuse humérale.(18)

En 2020, devant l'absence de spécification légale au Royaume-Uni quant à la source des échantillons de sang, l'utilisation du sang capillaire est à nouveau examinée, comme alternative au sang veineux, sur des prélèvements sanguins effectués sur des volontaires ayant consommé de l'alcool une heure auparavant. Les résultats n'ont pas trouvé de différence significative entre les volumes prélevés (100 versus 10  $\mu$ L). Ils ont relevé une différence significative entre prélèvements veineux et capillaires dont l'écart était cohérent avec les précédentes études réalisées. En tenant compte d'une sous-estimation de la teneur en alcool par rapport au prélèvement connu, le sang capillaire est ainsi établi comme une matrice viable pour tester l'alcoolémie (19).

Dans notre étude, il est donc décidé de réaliser des prélèvements les plus périphériques possibles pour s'affranchir au maximum des phénomènes de RPM. Lors de notre phase préliminaire de 2021, les prélèvements ont été réalisés sur du sang capillaire des membres supérieurs et il une différence aberrante de concentration de la cocaïne et de ses métabolites a été relevée sur un des cas (n°5), pour les prélèvements mitra T1 largement supérieurs par rapport aux prélèvements T2 et classiques. Ce résultat aberrant a été attribué à une contamination des doigts du défunt lors de la manipulation du produit avant consommation.

Un nettoyage à l'eau ou au sérum physiologique pourrait permettre de contourner ce problème. Cependant cette solution est incompatible avec la préconisation médico-légale de préserver l'état des mains d'un corps avant l'autopsie, par exemple pour réalisation d'un prélèvement à visée génétique ou de tamponnoirs de recherche de poudre en cas de tir par arme à feu. Il a donc été établi, dans la réflexion du protocole de 2023, que les prélèvements seraient réalisés sur les membres inférieurs, moins exposés à la contamination, et dont la localisation est moins sensible aux artefacts réalisés lors de l'autopsie.

### 1.2 2023 : prélèvements sur les membres inférieurs

Le protocole initial préconisait un prélèvement sur la pulpe d'un orteil ou une veine dorsale du pied. Le but principal de ce prélèvement est une facilité de réalisation en levée de corps, quand l'accès au corps et sa manipulation peuvent s'avérer plus difficiles, favorisant ainsi un prélèvement le plus précoce possible. Les tentatives de prélèvement sur un orteil se sont toutes révélées infructueuses.

Après la mort, le sang subit une migration passive dans les parties déclives du corps. Ce dernier est placé en décubitus dorsal en housse mortuaire, laissant les orteils rapidement exsangues. Il fut même tenté d'effectuer une incision au bistouri sur

la pulpe des orteils, se solvant aussi par un échec. Ce site de prélèvement a donc été rapidement abandonné.

Les veines superficielles du pied ont donc été utilisées. Les prélèvements des veines dorsales du pied ont apporté des résultats aléatoires. Tout comme pour les orteils, elles subissaient également le phénomène de migration et il arrivait fréquemment qu'une veine très apparente soit totalement vide ou insuffisante pour remplir les simples mitras, malgré les pressions exercées sur la peau pour tenter de faire refluer le sang. Le meilleur site de prélèvement découvert dans les essais fut la veine retro-malléolaire latérale. Moins apparente que celle du dos du pied, mais plus déclive, elle fournit en effet plus de sang.

Il est à noter qu'environ 10 minutes étaient nécessaires pour la réalisation de deux mitras et un micro-tube, temps de déshabillage du corps et d'étiquetage des prélèvements compris. Il était bien plus facile d'obtenir du sang lorsque le corps n'avait été réfrigéré que depuis peu de temps. Ceci est l'une des raisons expliquant qu'un peu plus de prélèvement T1 ont été réalisés sur le pied comparé au T2. (Tableau 1). Il faut également prendre en compte le fait que tous les prélèvements T1 ont été réalisés par les investigateurs directs de l'étude, là où les prélèvements T2 pouvaient être remplis par l'ensemble de l'équipe du service de Médecine Légale. Souvent, la quantité de sang obtenue n'était pas suffisante pour remplir le micro-tube. Malgré le bec recueilleur, les gouttes de sang, de petite taille, restaient accrochées à l'entrée du tube et n'atteignaient pas les inhibiteurs de coagulation et de dégradation en poudre au fond du tube. L'utilisation d'un vortex permit parfois de répondre à ce problème. Cependant, hormis le prélèvement du corps avant l'entrée en réfrigération, la quantité de sang recueilli dépassait rarement 0,1 ml soit le quart du micro-tube. L'utilisation du sang fémoral fut donc majoritaire pour le remplissage du micro-tube.

La promesse de facilité d'utilisation des DBS chez le vivant ne trouve pas son écho pour les prélèvements *post mortem*, du moins au niveau capillaire ou très périphérique. Un apprentissage de la technique de prélèvement est nécessaire et, une fois acquise, elle reste fastidieuse, aléatoire et chronophage. De ce fait, elle n'a pas été adoptée par tous les agents préleveurs. Elle pourrait cependant être plus facilement réalisée en situation de levée de corps, avant le phénomène de migration sanguine et la réfrigération du corps.

## 2. Variations des concentrations observées par molécules

### 2.1 Alcool

#### 2.1.1 Ethanol

##### a. Variations en fonction du $\Delta T$

Dans notre étude, la variation moyenne de la concentration d'éthanolémie sur le  $\Delta T$  (différence entre T1-T2), vers l'augmentation ou la diminution, est de de 0,58 g.L (Médiane = 0,55 ; Ecart type = 0,29). Ces différences impliquent peu de variations sur le plan des symptômes cliniques.

La littérature actuelle établit bien le fait que l'éthanol est concerné par une formation *post mortem* par putréfaction, en quantités variables et non prévisibles. En majorité, les études menées mettent en avant une production de concentrations d'Ethanol très faibles à modérées (<0,7 g/L) (20). Dans certains cas documentés, des concentrations allant de 1,2 g/L à 2,2 g/L ont été également rapportées chez des sujets n'ayant pas consommé d'alcool, susceptibles d'impliquer des problèmes d'interprétation médico-légale et de graves implications juridiques (7,21–24).

Il faut également considérer que la putréfaction, qui entraîne d'abord une néo-formation de l'éthanol par fermentation, est également à l'origine d'une dégradation secondaire, survenant plus tardivement, lorsque les substrats privilégiés sont

épuisés (11), ce qui peut expliquer des concentrations d'éthanol plus basses sur les prélèvements au T2.

Les phénomènes de putréfaction sont ralentis par la réfrigération des corps à + 4°C (25). Les corps prélevés de notre étude étaient tous, selon le protocole de prélèvement, des corps au DPM inférieur à 96 heures ayant donc bénéficié d'une mise en réfrigération rapide après le décès, et par conséquent indemnes de toute trace de putréfaction avancée. Il paraît donc cohérent de ne pas avoir trouvé de différence de concentration entre les groupes de prélèvement pouvant évoquer une production putréfactive.

A la putréfaction s'ajoute la RPM de l'alcool, qui est exposée dans la littérature comme un problème majeur du fait de ses propriétés moléculaires le faisant très largement diffuser au travers des membranes cellulaires (2).

Les plus grands  $\Delta T$  T1-T2 pour l'éthanolémie de notre étude (119 heures pour le cas n°4 et 94 heures pour le cas n°21 (Annexe 1) présentent de manière non intuitive les variations de concentration pour les  $\Delta T$  les plus faibles. Les plus grandes variations d'alcoolémie observées sont de l'ordre de 1,01g/L et 1,11 g/L pour des  $\Delta T$  respectifs de 45 et 72h (cas n°23 et 20). Par ailleurs, aucune corrélation n'est trouvée entre les variations de concentration en éthanol des trois groupes de prélèvement et le  $\Delta T$  réparti en deux groupes dans notre étude (Tableau 5).

Nos résultats trouvent un écho dans l'étude de Briglia et al (22) où, sur des prélèvements sanguins (sang cardiaque droit et gauche- et sang fémoral) du liquide péricardique, du liquide céphalorachidien, de l'humeur vitrée, de l'urine, du contenu gastrique et des fragments de cerveau ont été prélevés sur 61 cas autopsiques. Les variations de concentration sanguine d'éthanol, entre les différents sites d'échantillonnage au sein de chaque cas, ont été les suivantes : 40 cas présentaient

des différences inférieures à 25 % ; 16 cas présentaient une variabilité comprise entre 25 et 50 %, 4 cas présentaient des différences supérieures à 50 %. Les écarts les plus importants se produisaient dans les cas où une concentration d'alcool dans le liquide gastrique était particulièrement détectée (0,5 % ou plus). L'analyse sur l'ensemble des cas ne révélait aucune différence statistiquement significative.

Dans notre étude, on peut émettre l'hypothèse que les cas ayant des augmentations importantes de leur concentration en éthanol entre le T1 et le T2 (n°3, 23 et 33) avaient encore une concentration d'alcool importante dans l'estomac, pourvoyeuse d'une RPM. Les cas ayant des variations moins importantes (n°4, 7 et 34) pourraient ainsi s'expliquer par une concentration moins importante, avec un décès survenu après l'absorption de la majorité de l'alcool consommé. Les commémoratifs de découverte des corps de chaque sujet décédé ont été recensés lors de notre inclusion. Cependant, il serait hasardeux d'établir une réflexion sur la temporalité précise de la consommation à partir de ces informations, dans notre étude comme dans la pratique courante.

Il est à souligner que tous les prélèvements sur l'éthanolémie de notre étude n'ont été réalisés que sur du sang périphérique, fémoral ou sur une veine du pied, contrairement aux études s'attachant à démontrer la RPM de l'alcool. Ils s'exonèrent donc mieux de son influence.

Nos résultats suggèrent l'absence de bénéfice à la réalisation précoce du prélèvement dès lors que le corps est correctement conservé en réfrigération et que les prélèvements sont réalisés en périphérie. Les variations de la concentration en éthanol sont cependant soumises à trop de facteurs pour être prévisibles, et un grand nombre d'échantillons peut lisser les différences de concentration dans une analyse statique. Les interprétations médico-légales se font elles au cas par cas. Il paraît donc

plus sûr de s'en tenir à un prélèvement le plus précoce possible afin de s'épargner les cas isolés qui présenteraient des variations modérées à forte.

#### **b. Stabilité des micro-tubes en comparaison avec les prélèvements classiques**

Notre étude n'a trouvé aucune variation significative entre les prélèvements sur micro-tube et sur tube fluoré classique. Sur ce point, elle s'inscrit dans un panel plus large de recherche portant sur la réduction des volumes sanguins prélevés dans des tubes.

Une réduction de volume sanguin pourrait apporter un intérêt économique et logistique, avec une diminution des coûts de stockage en termes de volume et de poids. Compte-tenu des résultats de notre étude et de la littérature préexistante, des études approfondies sur la non-infériorité pourraient être menées.

#### 2.1.2 Peth

Les analyses de la variance des cas de Peth comptent les effectifs les plus importants. Elles ne mettent pas en évidence de différence significative. Toujours dans une démarche médico-légale, nous nous intéresserons à un éventuel changement de l'interprétation des concentrations individuelles des cas de notre étude selon les trois groupes de prélèvement.

Les Peths sont des métabolites de l'éthanol issus d'une voie de dégradation mineure ayant lieu dans les membranes cellulaires par action de la phospholipase D. Ils se détectent à partir d'une consommation de 14-28 g d'éthanol pur. Les globules rouges ne possèdent pas l'une des enzymes responsables de sa métabolisation, ce

qui explique l'utilisation du sang total comme matrice pour les Peths ainsi que leurs longues demi-vies d'élimination, de 3 à 7 jours (26).

Les travaux récents proposant l'utilisation de DBS pour stabiliser les Peths découlent du fait que ce dernier est dit instable *in vitro* : il se dégrade dans le tube de sang au bout de quelques jours à température ambiante. Ces travaux démontrent l'absence de formation de Peth dans le papier buvard, l'absence d'incidence des différents anticoagulants sur la stabilité du Peth, ainsi que la persistance du Peth dans le sang séché à température ambiante sur une période d'au moins six mois, voire neuf.

Le Peth 16:0/18:1 est l'homologue le plus abondant de cette famille. Sa fenêtre de détection est comprise entre 21 et 28 jours après la consommation d'alcool. C'est un biomarqueur cumulatif permettant d'estimer de manière quantitative la consommation d'alcool. En l'absence de consensus international, plusieurs études regroupées en une synthèse s'accordent sur deux valeurs-seuils discriminantes du type de consommation, fixées à 20 et 200 µg/L, pour interpréter les résultats (27) :

- < 20 µg/L : Consommation faible ou abstinence ;
- entre 20 et 200 µg/L : consommation modérée, comprise entre 2 à 4 unités standards /Jour plusieurs jours par semaine ;
- 200 µg/L : consommation excessive, définie comme étant supérieure à 4 unités standards/Jour plusieurs jours par semaine.

Dans notre étude, aucune des variations de concentration de Peth 16:0/18:1 observées au cas par cas entre le T1 et le T2 n'impacte l'interprétation de la consommation alcoolique au cours du mois précédent le décès du défunt.

Le second homologue Peth 16:0/20:4 semble, malgré une littérature peu fournie, présenter l'intérêt d'une demi-vie d'environ deux heures. Cette demi-vie permettrait de disposer d'une fenêtre de détection d'environ une semaine, et le

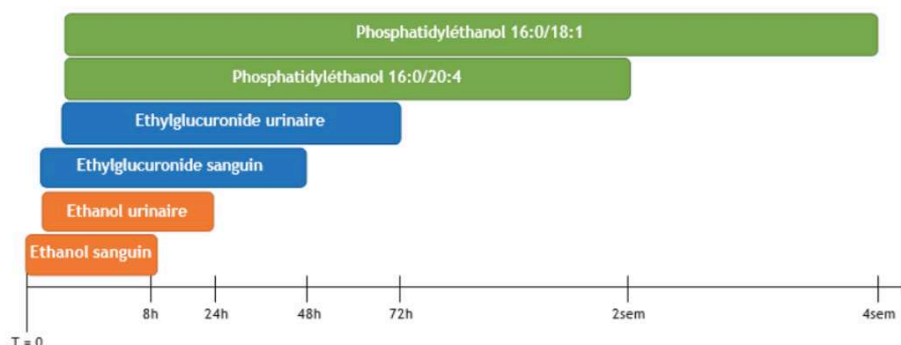
placerait ainsi entre l'EtG urinaire et le Peth 16:0/18:1 (Figure 35), ce qui permettrait d'affiner l'estimation de la dernière consommation.

Il n'est pas rapporté de valeur seuil pour le Peth 16 :24. Les variations de concentrations observées au cas par cas n'impliquent donc pas de changement dans l'interprétation médico-légale.

### 2.1.3 Ethylglucuronide

L'éthylglucuronide (EtG) est issu de la conjugaison de l'éthanol à l'acide glucuronique activé via les UDP-Glucuronyl-Transférases (UGT) 1A1 et 2B7. Il permet une détection des consommations d'alcool sur les dernières 24 à 48 heures dès 10 g d'éthanol consommé (45). Même si ce biomarqueur est considéré comme spécifique et sensible, le niveau de corrélation avec l'aspect quantitatif de la consommation en alcool est moins performant que celle du Peth 16:0/18 :1, en raison de nombreuses causes d'interférence et de facteurs confondants dans l'interprétation des résultats. Concernant ses valeurs seuils d'interprétation pour l'estimation de la quantité d'alcool consommé, ils concernent les concentrations d'Etg urinaires. Ainsi dans notre étude, en plus de l'absence de différence statistiquement significative sur un effectif conséquent, aucune des variations de concentration d'éthylglucuronide observées au cas par cas entre le T1 et le T2 n'a impacté l'interprétation médico-légale de la consommation alcoolique.

**FIGURE 35 : FENETRE DE DETECTION DES PRINCIPAUX BIOMARQUEURS DIRECTS UTILISES POUR DETECTER UNE CONSOMMATION AIGUE D'ALCOOL (69)**



## 2.2 Opiacés et opioïdes

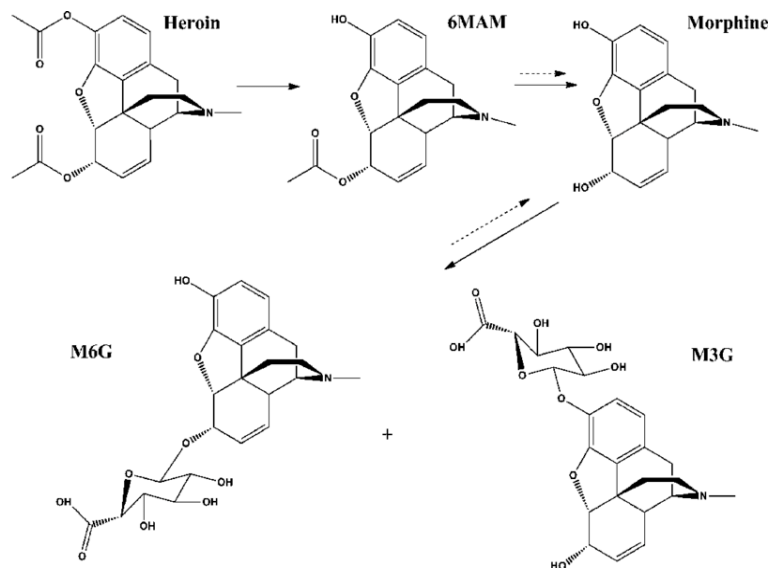
L'interprétation des dosages de molécules opiacées est fondée sur des connaissances pharmacocinétiques et métaboliques complexes. Bien que chaque opiacé ait ses propres métabolites, la Morphine est un métabolite commun à la plupart d'entre eux.

Concernant l'Héroïne, elle est très rapidement métabolisée en 6-Monoacétylmorphine (6-MAM), sa demi-vie plasmatique est d'environ cinq minutes. La 6-MAM est ensuite dégradée en Morphine par les estérases du plasma. Les concentrations en 6-MAM, sont détectables moins d'une minute après l'administration, et déclinent un peu plus lentement que celles de l'Héroïne. La concentration maximale de 6-MAM est atteinte en trois minutes et la demi-vie est estimée entre cinq et 52 minutes. Ce métabolite spécifique de l'Héroïne est son seul marqueur en toxicologie et il n'est plus détectable au-delà de deux heures chez un sujet vivant. Cette cinétique très rapide rend impossible l'identification d'une consommation d'Héroïne en cas de décès survenant à distance de la prise d'une dose et contraint à seulement la supposer à partir du contexte et des commémoratifs.

Concernant la Codéine, elle est transformée en Morphine au niveau hépatique *via* un système enzymatique complexe appartenant aux cytochromes P450. Le pic de concentration est atteint entre deux et quatre heures, et la demi-vie d'élimination est comprise entre 1,2 et 3,9 heures.

La Morphine est-elle-même transformée en Morphine-6-glucuronide (M6G) et en Morphine-3-glucuronide (M3G).

**FIGURE 36 : VOIE METABOLIQUE DE L'HEROÏNE ET DE SES PRINCIPAUX METABOLITES (27)**



*In cadaver*, l'hydrolyse enzymatique bactérienne post mortem des métabolites conjugués de la Morphine peut augmenter la concentration en Morphine libre par rapport à la concentration ante-mortem (transformation de la M6G et M3G en Morphine).

L'ensemble des voies enzymatiques de dégradation des opiacées est soumis à une grande variabilité inter-individuelle due à un polymorphisme génétique important, ce qui complexifie d'autant plus les variables à prendre en compte.

Dans notre étude, les quatre cas positifs pour la Morphine sont les mêmes que ceux de la Codéine. Parmi ces quatre cas, trois sont également positifs à la 6-MAM.

Cette présence de Morphine s'interprète donc ici comme un produit issu des voies de la dégradation de l'Héroïne et de la Codéine. Quant à la Codéine, il est vraisemblable de penser qu'elle a été absorbée lors de la consommation de poudre d'Héroïne et non par une prise indépendante. Comme produit de consommation, l'Héroïne se présente sous la forme d'une poudre. C'est un mélange de composition variable contenant l'Héroïne en tant que molécule, un produit semi-synthétique obtenu par acétylation de la Morphine, et divers excipients alcaloïdes provenant de l'opium, non transformés au cours de la fabrication de la synthèse d'Héroïne (Morphine, papavérine, noscapine, Codéine, etc.).

### 2.2.1 Morphine

#### a. Variations en fonction du $\Delta T$

On pouvait postuler une hausse des concentrations de Morphine entre T1 et T2 en reflet d'une dégradation *post mortem* de la 6-MAM et de la Codéine, comme observé dans notre étude. Concernant la 6-MAM, cependant, on observe une augmentation sur chacun des trois des cas (cf. paragraphe 2.2.3).

La RPM de la Morphine a fait l'objet de plusieurs études. (28) ont ainsi évalué les différences de concentration de Morphine *post mortem* dépendant du site et du temps sur 32 décès. Du sang du ventriculaire gauche, du sang fémoral et du liquide céphalorachidien avaient été collecté dès que possible après le décès puis au moment de l'autopsie. Aucune preuve de modification de la concentration de Morphine en fonction du temps n'a été trouvée sur les sites de prélèvement sus-cités. La seule différence résidait dans le fait que les concentrations de Morphine du sang ventriculaires étaient systématiquement supérieures à celles du sang périphérique du

même temps de prélèvement. Cela était particulièrement vrai lorsque la concentration ventriculaire de Morphine dépassait les 0,30 mg/L.

Maskell et al. ont examiné la relation entre les concentrations de Morphine et de Codéine *ante* et *post mortem* dans le sang total de sept sujets décédés (Intervalle *post mortem* moyen = 28 heures [13,5-48] heures; Intervalle *ante-mortem* moyen = 97 minutes [9-300] minutes). Les résultats de cette étude ont indiqué que le métabolisme et le DPM affectaient les concentrations de médicament *post mortem* de manière imprévisible. (29)

Il n'est donc pas incohérent d'observer une baisse de concentration de la Morphine compte tenu des connaissances actuelles sur la RPM de la Morphine.

La Morphine étant le principal composé actif, seul ou issu de la dégradation d'autres opiacés, la réflexion médico-légale s'intéressera encore une fois à l'imputabilité du décès aux concentrations retrouvées pour chaque cas selon les différents prélèvements.

Les concentrations en Morphine peuvent refléter des niveaux d'exposition, mais ne permettent pas d'établir une relation dose-effet. Cela est particulièrement vrai chez les consommateurs réguliers ayant développé une tolérance.

Les concentrations plasmatiques de la Morphine sont classiquement considérées comme toxiques au-delà de 100 µg/L. Les valeurs des concentrations sanguines de Morphine associées aux décès varient quant à elles largement, de 100 et 4000 µg/L(30). Les précédentes études ont observé un chevauchement entre les concentrations retrouvées chez les consommateurs d'Héroïne vivants et chez les sujets décédés suite à une prise d'Héroïne. Plusieurs cas de victimes décédées au cours d'un usage d'Héroïne montrent même que la concentration sanguine en Morphine est significativement inférieure à celle mesurée chez des sujets

consommateurs encore vivants, et du même ordre que celle d'usagers qui décèdent d'une autre cause. Il serait probablement plus performant d'étudier les concentrations cérébrales en Morphine, mais peu d'études ont été publiées à ce sujet (30).

Dans certains décès attribués à l'Héroïne, les faibles taux de Morphine libre peuvent aussi être liés au délai séparant la consommation et la mort : dans de nombreux décès où l'Héroïne est retenue comme cause, la mort survient plusieurs heures après l'injection. Ce phénomène de mort retardée apparaît paradoxal, d'autant qu'il survient majoritairement chez des sujets usagers au long cours, « expérimentés » chez lesquels on attend une plus grande tolérance aux opiacés. Une période d'abstinence précédant une reprise de consommation est ainsi un facteur important de risque de décès pour l'Héroïne (31).

La tolérance est aussi modifiée par le contexte environnemental. Ce phénomène a été démontré chez l'animal et chez l'homme : une dose administrée dans un environnement habituel a moins de risque de conduire à une overdose que la même dose dans l'environnement habituel de consommation (32,33). De même, anticiper les effets de l'administration d'un opiacé agirait comme un réflexe conditionnel réduisant l'action de la substance et contribuant ainsi au développement d'une tolérance à l'effet (34–36). Ainsi, plusieurs études identifient l'injection dans un lieu public comme une situation à risque de mort. Les mécanismes et les facteurs qui influencent cette mort retardée sont mal connus, mais la prévention attire l'attention des usagers sur le fait de ne pas rester seuls plusieurs heures après l'injection.

La présence d'une co-intoxication avec plusieurs substances exogènes est bien sûr à prendre en compte également, ainsi que d'autres facteurs associés aux décès liés à l'usage d'Héroïne (hors complications infectieuses, usage chronique et

pathologie accidentelle) : le sexe masculin, un âge autour de la trentaine, un usage régulier, l'utilisation de la voie intraveineuse, la volonté suicidaire, la pureté du produit ou la présence de contaminants toxiques.

Il ne peut donc être déterminé de taux fixe associé à un décès ; les seuls résultats des analyses toxicologiques sanguines ne permettent pas de se prononcer quant à la contribution de l'Héroïne et de ses métabolites au mécanisme physiopathologique ayant abouti au décès (37). L'information doit provenir des constatations de l'enquête sur les lieux de découverte du corps ou des renseignements donnés par les proches.

Dans notre étude, les doses de Morphine trouvées sont donc de l'ordre des concentrations thérapeutiques, hormis pour le cas n°6 qui pourrait s'avérer litigieux.

De plus, trois de ces quatre cas présentent aussi une co-intoxication (cas n°4 : cocaïne, Méthadone et benzodiazépine, cas n°6 et 20 : cocaïne). Notre réflexion médico-légale ne sera donc que peu influencée par les variations de concentration observées.

Compte tenu de la RPM imprévisible de la Morphine en termes de proportion et de sens de variation, une concentration de Morphine la plus précise possible serait à privilégier, avec un prélèvement précoce afin de s'affranchir d'une variable supplémentaire et imprévisible dans l'imputabilité au décès à une mort d'origine toxicologique.

**b. Stabilité des micro-tubes en comparaison avec les prélèvements classiques**

L'observation des moyennes des Morphines au T2 montre une concentration en moyenne plus élevée sur le mitra en comparaison avec le tube sang, avec beaucoup de disparités au cas par cas.

Une fois prélevée sur du sang *ante-mortem*, la Morphine est relativement stable dans les prélèvements sur tube fluoré conservés à 4°C, des diminutions ont été rapportées, de l'ordre de 30 % pendant 20 jours. Elle l'est d'autant plus sur des échantillons congelés à -20°C. En revanche, son schéma de dégradation diffère totalement sur du sang *post mortem*, du fait de l'hydrolyse *post mortem* des glucoronides de Morphine qui entraîne des niveaux élevés de Morphine après plusieurs mois de conservation sans réfrigération (38).

Un intervalle de plusieurs années a été éprouvé par (39) sur des échantillons de sang *post mortem* réanalysés après un stockage à -20°C de 16 à 18 ans. Les échantillons contenant la Morphine et la Codéine n'ont montré que de légers changements à cette température avec une augmentation de l'ordre de 30 % pour 27 des 35 échantillons de Morphine, de plus de 50 % pour trois autres et d'une diminution pour les cinq derniers.

Il existe moins de littérature sur la stabilité au long terme sur DBS et VAMS. Les études réalisées observent une stabilité de la plupart des molécules échantillonnées sur des VAMS ou des DBS sans variation significative sur une durée d'une semaine à température ambiante et sur plusieurs mois à -20°C (16).

Le postulat de trouver des concentrations de Morphine plus élevées sur le sang échantillonné en tube fluoré qu'en Mitra n'a pas été confirmé par notre étude. Au contraire, nous bénéficions d'un cas (n°4), avec un temps de stockage conséquent de

2 ans sur DBS, qui met en évidence des concentrations équivalentes entre le mitra et le tube fluoré classique.

Par ailleurs, le cas n°20 affiche une concentration de Morphine indétectable sur le tube de sang pour un temps de stockage inférieur. Les paramètres répertoriés dans notre étude ne permettent pas d'expliquer cette disparition.

### 2.2.3 Codéine

#### a. Variations en fonction du $\Delta T$

Concernant les résultats de notre étude, les variations de concentration de Codéine entre T1 et T2 observées au cas par cas sont considérées comme nulles et sans aucun impact sur l'interprétation médico-légale.

Différentes études trouvent des résultats contrastés de ratio C/P pour la Codéine variant de 2,4 (40) et 2,6 (41) à 4,9 (42) sur des petites cohortes de quatre cas, avec des variabilités inter-individuelles marquées.

Il est à souligner qu'un rapport C/P élevé ne reflète pas toujours une RPM étendue et n'est pas forcément en adéquation avec des variations de concentration sur un même site en fonction du temps. Cette observation a déjà été faite pour la Codéine (42).

Brockbals et al. n'évaluaient ainsi aucun changement significatif de concentration post mortem sur un même site de prélèvement en fonction du temps lors d'une étude de cohorte sur 92 cas. Ses auteurs relèvent également des variabilités inter-individuelles extrêmes (43).

Notre étude trouve *a contrario* des variations très homogènes. Mais remis en perspective de la littérature, le faible effectif de notre cohorte ne permet pas de généraliser ses résultats.

**b. Stabilité des micro-tubes en comparaison avec les prélèvements classiques**

Les concentrations de Codéine de notre étude sont de l'ordre de concentrations infra-thérapeutiques (30). Les variations observées sont donc minimales, elles peuvent être considérées comme identiques dans les comparaisons Mitra *versus* tube fluoré.

#### 2.2.4 Héroïne et 6-MAM

**a. Variations en fonction du  $\Delta T$**

Dans notre étude, la présence de 6-MAM est mise en évidence au prélèvement T1 comme au T2, avec des concentrations plus élevées au T2.

La présence de 6-MAM permet d'affirmer la consommation d'Héroïne, mais ses concentrations ne sont pas proportionnelles à celles de l'Héroïne.

La 6-MAM continue à être dégradée en Morphine dans le sang après le décès. Wyman et Bultman (2004) (44) ne détectent ainsi sa présence que sur 13 des prélèvements sanguins de 25 cas de sujets décédés, contre une seule détection de 6-MAM sur les 25 prélèvements d'humeur vitrée.

Par ailleurs, d'autres facteurs interviennent. Il a été ainsi démontré que l'éthanol inhibe deux étapes du métabolisme de l'Héroïne : l'hydrolyse du 6-MAM en Morphine et la glucuronidation de la Morphine en M3G et M6G. Cette interaction pharmacocinétique pourrait encore compliquer les résultats après une consommation combinée d'Héroïne et d'éthanol (45).

Le  $\Delta T$  le plus important de notre étude avoisine les 5 jours (cas n°4) et les trois cas de notre étude ont également une alcoolémie positive, ce qui a pu favoriser la persistance de 6-MAM.

**b. Stabilité des micro-tubes en comparaison avec les prélèvements classiques**

L'imputabilité d'un décès à la consommation d'Héroïne constitue une difficulté fréquemment rencontrée, parfois sous-estimée en pratique médico-légale : d'une part du fait des difficultés d'imputabilité des concentrations de Morphine en résultant (décrites au paragraphe 2.2.1) ; d'autre part du fait de la grande rareté des circonstances caricaturales d'un tel décès avec la seringue trouvée dans le bras avec le garrot.

Au vu de la convergence des voies de dégradation des opiacés, décrite plus haut, la consommation d'Héroïne ne peut être établie en l'absence de 6-MAM sur les échantillons. Or la concentration de 6-MAM est indéterminée sur deux des prélèvements classiques réalisés dans notre étude, résultat compatible avec les connaissances actuelles sur la 6-MAM. La 6-MAM subit une désacétylation en Morphine à température ambiante ce qui explique sa diminution considérable, voire sa disparition après un temps de conservation du tube classique.

Huertas et al (46) ont étudié la dégradation de la 6-MAM *in vitro*. Les meilleures conditions de stockage étaient à  $-20^{\circ}\text{C}$  avec adjonction de NaF, avec des récupérations de 47,1 % des concentrations de 6-MAM, après un an de détention contre 45 jours sans NaF. A  $4^{\circ}\text{C}$ , la 6-MAM a disparu après 215 jours avec NaF contre 15 jours à  $4^{\circ}\text{C}$  sans NaF. Il est à souligner qu'ici la 6-MAM était ajoutée aux échantillons de sang, ce qui diffère d'un échantillon de sang *post mortem*.

Les résultats de notre étude indiquent que l'utilisation du mitra offre un support permettant la détection de 6-MAM après une période de stockage au moins équivalente à deux ans (pour le cas n°4).

L'apport de ce support pourrait donc être majeur aussi bien dans l'analyse initiale des prélèvements que dans leur contre-expertise des mois ou des années après. En effet, la consommation d'Héroïne n'aurait pas pu être établie si seule l'analyse classique avait été menée sur les deux cas décrits.

### 2.2.5 Méthadone

#### a. Variations en fonction du $\Delta T$

L'observation de concentrations équivalentes pour la Méthadone et l'EPP concordent avec la littérature actuelle. Brockbals et al (40) ont effectué une étude sur un effectif de 23 corps, en deux temps comme la nôtre, avec un  $\Delta T$  moyen de 28h ; écart type de 15h. Les prélèvements portaient sur des échantillons de sang cardiaque et fémoral, et des échantillons de biopsie tissulaire (poumon, rein, foie, rate, muscle de la cuisse et tissu adipeux) prélevés à l'aide d'une biopsie guidée par tomodensitométrie. L'étude a mis en évidence une RPM globale de la Méthadone conformément aux propriétés physico-chimiques de la molécule (lipophilie, liaison élevée aux protéines tissulaires, Vd 4-7 L/kg et pKa 8,6), avec une distribution plutôt inhomogène dans les régions du corps. Cependant, les changements en fonction du temps sur un même site ont été considérés comme non pertinents en ce qui concernait l'interprétation médico-légale. De plus, ces dernières variations étaient marquées par une variabilité inter-individuelle (plage de -9 à +71 % ; moyenne de +20% ; médiane de +20%) avec des augmentations significatives dans certains cas et minimales dans

d'autres. Les mêmes constatations étaient faites pour l'EDDP avec une tendance moins significative.

Les variations de concentrations trouvées dans notre étude pour la Méthadone et l'EDDP sont globalement trop faibles pour être litigieuses sur l'imputabilité au décès. Le cas n°22 détonne dans cette observation. Aucune des variables relevées dans notre étude (DPM avant prélèvement T1,  $\Delta$  T1-T2, site de prélèvement des mitra et circonstances de découverte) ne permettent d'expliquer cette variabilité hors de proportion avec les autres cas. Remis dans la perspective de la littérature, nos résultats tendent à démontrer l'absence de bénéfice à la réalisation d'un temps précoce sur le plan médico-légal.

**b. Stabilité des micro-tubes en comparaison avec les prélèvements classiques**

On observe une tendance globale à des concentrations plus élevées de la Méthadone et de ses métabolites dans les échantillons sur tube fluoré que sur le mitra.

Les concentrations plasmatiques thérapeutiques de la Méthadone sont comprises entre 50 et 750 µg/L(30). Elles se chevauchent avec les concentrations toxiques (100 µg/L pour un sujet naïf et de 500 à 1000 µg/L pour les sujets dépendants). (47)

Les cas de surdosage de Méthadone déclenchent, comme pour les opiacés, une altération centrale de la ventilation et une dépression respiratoire. Cet effet s'estompe lors des prises de doses constantes et réapparaît lors d'une longue interruption. Des facteurs peuvent aggraver la survenue de cette dépression : asthme ou autre pathologie pulmonaire pré-existante, consommation maintenue en opiacée, benzodiazépine ou alcool.

Encore une fois, la seule mesure de la concentration sanguine *post mortem* de Méthadone ne permet pas de déterminer l'imputabilité à un décès, et une approche globale de l'ensemble des données doit être menée. Les variations de concentration entre mitra et tube fluoré sont quant à elles plus importantes, et pourraient présenter un changement dans l'interprétation de l'imputabilité au décès, cependant, notre faible effectif ne permet pas de conclure.

### 2.3 Tramadol

**a. Variations en fonction du  $\Delta T$**

On observe une augmentation du Tramadol et de ses métabolites entre le T1 et le T2. Celle-ci pourraient être attribuée à la RPM. L'étude de Brockbals L et al (48)

met en avant que les opioïdes tels que le Tramadol, la Codéine, l'hydrocodone et l'oxycodone ne présentent aucune tendance constante en matière de RPM significative. Les effectifs de notre étude sont insuffisants pour établir des hypothèses pertinentes à ce sujet.

L'imputabilité du Tramadol dans des effets indésirables graves, ayant pu favoriser le décès, est peu probante dans des situations d'utilisation à dose thérapeutique, comme dans les cas n°16 et 14 de notre étude. L'hypoglycémie pourrait constituer un effet secondaire rare mais létal. La majorité des situations de surdosage en Tramadol résultent de surdosages volontaires. En situation de surdosage, le Tramadol peut conduire à un syndrome sérotoninergique létal, entraînant arrêt cardiorespiratoire, défaillance hépatique cytolytique, hypoglycémie, détresse respiratoire, à considérer à partir de 1000 µg/L. Une concentration est potentiellement létale au-delà de 2000 µg/L (30). Un problème d'interprétation peut donc se poser avec le cas n°8. Une utilisation précoce de ce type de prélèvement serait donc à considérer.

**b. Stabilité des micro-tubes en comparaison avec les prélèvements classiques**

Les variations observées dans notre étude n'impliquent pas de répercussions significatives en termes de µg/L, dans la clinique pré-mortem ou dans une imputabilité au décès.

## 2.4 Cocaïne

**a. Variations en fonction du  $\Delta$  Temps**

Notre étude n'a pas démontré de sens systématique ni de proportion de variation entre le prélèvement T1 et le T2.

La connaissance de la RPM de la cocaïne est essentielle pour l'interprétation de ses concentrations *post mortem*. Elle n'est cependant pas la seule responsable des changements observés de concentration. Après son absorption, la cocaïne est rapidement métabolisée dans le foie avec une demi-vie variable d'un individu à l'autre, comprise entre 30 minutes et une heure et demi. Ses principaux métabolites sont la benzoecgonine (BZE) et l'ester méthylique d'ecgonine (EME) (49). La dégradation de la cocaïne se produit par hydrolyse de deux manières : catalysée de manière enzymatique et de façon spontanée.

En présence d'éthanol, la cocaïne se transforme en Cocaéthylène par transestérification de la cocaïne au niveau du foie. Ce métabolite est plus toxique, il est à son tour métabolisé en BZE et en EME.

*In cadaver*, les concentrations de cocaïne peuvent ainsi diminuer par l'hydrolyse *post mortem* de la cocaïne dans le sang, principalement en EME. Il est donc cohérent de trouver des concentrations légèrement plus basses sur les deltas T1-T2 les plus courts de notre étude quand les deux mécanismes de l'hydrolyse se conjuguent. Des expériences *in vitro* à des conditions reproduisant celles du corps humain (pH = 7,4, Température = 37°C) ont montré que la formation de BZE par hydrolyse spontanée se produit à un taux d'environ 5 % de la cocaïne présente par heure (50).

Dans notre étude en revanche, on observe une diminution générale de l'EME entre le T1 et le T2 indépendamment de la cinétique de concentration de cocaïne, même dans les cas de baisse de la concentration en cocaïne pour lesquels on attendrait une augmentation de l'EME en reflet. La seule exception est pour le cas n°20, pour lequel la concentration d'EME augmente en même temps que celle de la cocaïne, la BZE et le Cocaéthylène. Pour ce cas, le prélèvement T1 est survenu après

67 heures de DPM, rendant peu vraisemblable l'hypothèse d'une continuité de l'absorption de la cocaïne par persistance du métabolisme dans les heures précoces *post mortem*.

Les études ayant exploré les variations de concentration de la cocaïne et de ses métabolites soutiennent l'existence d'une RPM objectivable en comparant le sang cardiaque et le sang fémoral à un instant T donné (51,52). Ceci peut être expliqué par les propriétés physicochimiques de la cocaïne et sa distribution *ante-mortem* dans le tissu adipeux. La BZE et l'EME sont également concernées dans une moindre mesure, car moins lipophiles. Cet effet est plus prononcé dans le sang fémoral que dans le sang cardiaque. Cela pourrait s'expliquer par la proximité du tissu adipeux fémoral avec la veine fémorale, comparée à la proximité du tissu adipeux abdominale avec le sang cardiaque (50). Dans notre étude, tous les VAMS et DBS des cas de cocaïne ont été réalisés sur le pied à l'exception du T2 du n°34 où il n'a pas été observé de RPM majeure.

Ce phénomène serait même augmenté pour les échantillons prélevés sur des corps ayant subi un traumatisme ou présentant un surpoids (50). En revanche, les concentrations varient au cours du temps de manière imprévisible entre les sites et au sein d'un même site.

Bien que la BZE soit un produit de dégradation de la cocaïne, il n'existe donc aucune corrélation démontrée dans la littérature entre les diminutions de la concentration de cocaïne au fil du temps et les augmentations de la BZE.

L'implication pratique des résultats décrits précédemment est qu'une concentration sanguine *post mortem* de cocaïne, de Cocaéthylène ou de BZE indique uniquement la concentration probable dans l'échantillon au moment où l'analyse a été

effectuée. De nombreux facteurs peuvent rendre cette concentration supérieure ou inférieure à la concentration qui était présente au moment du décès.

Dans notre réflexion médico-légale, l'imputabilité du décès doit être comparée aux concentrations trouvées au T1 et au T2. Les études ayant examiné la dépendance temporelle des changements de concentration de cocaïne *post mortem* ont mis en évidence une importante hétérogénéité dans sa cinétique et n'ont pas permis de déterminer de relation dose-effet (53). La létalité de la cocaïne réside dans la puissance de ses propriétés sympathomimétiques qui, associées à sa toxicité cardiaque et vasculaire lors de la consommation, présentent un surrisque d'arythmies ventriculaires, d'hypertension, d'infarctus du myocarde et d'hémorragie intracrânienne(53,54).

La cocaïne n'est donc pas systématiquement la cause du décès, mais elle peut constituer un facteur précipitant de mort subite particulièrement chez une personne avec antécédents cardio-vasculaires. L'association cocaïne-alcool, souvent retrouvée du fait de la potentialisation des effets euphorisants et de la diminution de la dysphorie du sevrage, est également corrélée à une plus grande mortalité. Ses effets secondaires (diminution de la capacité de jugement, hallucinations, épisodes psychotiques et états d'angoisse) entraînent également une altération du comportement susceptible d'intervenir dans le déterminisme mortel.

Il apparaît donc que la présence de toute quantité de cocaïne ou de métabolite peut être compatible avec un décès causé par la cocaïne. D'autres facteurs que la toxicologie, tels que les résultats de l'enquête et l'autopsie, devraient jouer un rôle prédominant dans la détermination de la cause probable du décès. A elles seules, les variations de concentrations ne changent donc pas notre réflexion médico-légale.

Les variations de concentration de cocaïnes peuvent cependant être importantes et multifactorielles (DPM, IMC et site de prélèvement). Nos résultats indiquent donc de privilégier une réalisation précoce du prélèvement, au moins dans les 48h première heures de DPM, pour éviter de surestimer la concentration de cocaïne. Les concentrations trouvées approchant ainsi celles présentent lors du décès pourront être intégrées dans la réflexions médico-légale avec les autres données de l'enquête et de l'autopsie.

**b. Stabilité des micro-tubes en comparaison avec les prélèvements classiques**

Notre étude observe une différence importante avec une concentration du tube fluoré très inférieure à celle sur VAMS et DBS.

Les premières études portant sur le dosage de la cocaïne et de ses métabolites sur DBS et VAMS étaient prometteuses en terme de sensibilité et de spécificité (55).

Concernant les DBS, l'étude d'Ellefsen et al (56) a démontré des résultats qualitativement similaires pour 392 DBS appariés à 92 échantillons de sang veineux, tous stockés à -20°C sur de courtes périodes. Les auteurs préconisaient toutefois de prendre en compte les différences entre le sang capillaire et le sang veineux, ainsi qu'une plus grande la variabilité des concentrations obtenues sur DBS.

La stabilité sur DBS à 4°C et à -20°C a également été éprouvée sur des périodes de plusieurs mois (57). A -20 °C, une perte significative de 17 % a été observée après 2 mois de stockage. Après un an, environ 60 % de la cocaïne a été récupérée sur du DBS.

A 4°C, environ 36 % de la cocaïne originale pouvait encore être détectée dans le DBS après un an. À température ambiante, la cocaïne s'est révélée stable pendant

quatre jours, avant une diminution significative (18%) observée à partir d'une semaine. Après un an de stockage à température ambiante, environ 14 % de la concentration de départ était récupérée.

*A contrario*, la cocaïne présente dans les tubes stockés à 4°C s'est révélée stable pendant seulement deux semaines.

Concernant l'EME, une légère augmentation a été observée à partir de trois semaines, tandis que la cocaïne et la BE restaient stables sur une période de trois mois (58).

A toute température, la dégradation des médicaments sur le DBS est moindre que pour les échantillons de sang liquide à températures et durées de stockage similaires. Une dégradation par l'hydrolyse spontanée et enzymatique de la cocaïne en son métabolite BZE se produit au fil du temps, même à -20 °C pour des échantillons traités avec un inhibiteur de la pseudo-cholinestérase. La persistance des concentrations de cocaïne sur mitra présente donc un intérêt majeur pour l'analyse en toxicologie médico-légale.

## 2.5 Cannabis

### a. Variations en fonction du $\Delta T$

Dans notre étude, les variations de concentration de cette substance entre le T1 et le T2 sont considérées comme nulles, en termes statistiques comme dans une analyse toxicologique ou une réflexion médico-légale.

Le THC est une base forte (Pka de 10.6) et une molécule lipophile possédant un volume de distribution élevé, il serait donc attendu qu'il démontre une haute RPM. Différentes études s'accordent cependant sur une redistribution « faible à modérée » pour le THC et ses métabolites (59–61). Hoffman et al. (59) ont trouvé un ratio C/P

significativement supérieur à 1 mais modeste (1, 1 à 1,3) pour le THC et le THC-COOH, ratio corrélé de manière positive mais faible au DPM. Le 11-OH-THC ne présentait pas de C/P significativement différent, ce qui impliquait l'absence de RPM pour ce métabolite. Il a également été observé une tendance à des concentrations de THC plus élevées dans le sang *ante-mortem* que dans le sang *post mortem*. Sur la base de ces résultats, il n'est pas recommandé d'appliquer un facteur de correction aux résultats *post mortem*.

Les résultats de notre étude sont donc en adéquation avec la littérature : la réalisation d'un prélèvement précoce n'a pas d'intérêt pour le Cannabis et ses métabolites.

**b. Stabilité des micro-tubes en comparaison avec les prélèvements classiques**

Les concentrations moyennes du THC et de ses métabolites sont toutes plus élevées sur le tube fluoré que sur le mitra.

Plusieurs études réalisées entre 2018 et 2022 ont éprouvé l'utilisation des VAMS pour le dépistage des principaux cannabinoïdes du Cannabis, dont le THC dans l'utilisation du Cannabis médical chez les patients épileptiques. Pigliasco et al. (62) présentent l'utilisation des VAMS comme une stratégie alternative, valable pour le suivi thérapeutique médicamenteux des patients traités.

Cependant, une étude menée par le Laboratoire de Lariboisière en 2023 s'est attachée à décrire l'utilisation des VAMS pour différentes molécules et a mis en avant l'absence de détection du THC et ses métabolites malgré un processus d'extraction poussé (16). Ces résultats étaient conformes à ceux rapportés dans une autre étude (63).

Joye et al (64) ont démontré qu'il est possible de détecter uniquement le THC-COOH d'un DBS après un double processus d'extraction. Son pourcentage de détection diffère selon la marque du DBS, en fonction des matériaux utilisés pour sa fabrication.

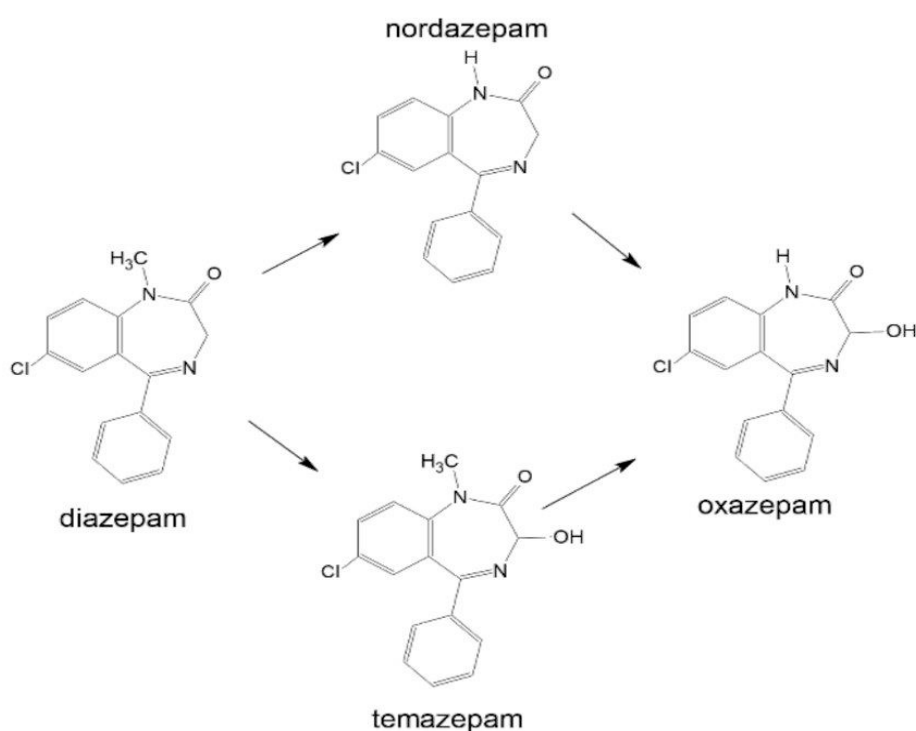
Mis en perspective de la littérature, les résultats de notre étude expliquent les faibles concentrations trouvées sur les mitras par les difficultés d'extraction. Les résultats à considérer pour l'approche de la concentration *ante-mortem* sont ceux réalisés sur le tube de prélèvement classique. Les mitras ne constituent pas, à l'heure actuelle, un support indiqué pour une utilisation reproductible et une estimation fiable de la concentration du THC et de ses métabolites.

## 2.6 Benzodiazépines

Le Diazépam est le principe actif de médicaments commercialisés sous le nom de Valium ®.

Le Témazépam est le principe actif de médicaments commercialisés sous le nom de Normison ®. Le Témazépam est également un métabolite (actif) du Diazépam, et est métabolisé en Oxazépam

FIGURE 37 : MÉTABOLISME DU DIAZÉPAM (65)



Ainsi, pour les cas n°1, 35, 34, 31, 30 et 20, la présence concomitante de Nordazépam, Témazépam et Oxazépam est vraisemblablement la conséquence de la prise de Diazépam dont ils sont les métabolites.

Les autres concentrations de Nordazépam, Témazépam et Oxazépam isolées ou sans Diazépam peuvent résulter d'une prise isolée de la molécule ou d'une prise initiale de Diazépam en fin d'élimination.

Les concentrations de benzodiazépines relevées dans nos études sont toutes de l'ordre du thérapeutique. Les cas n°34 (pour le Diazépam et le Nordazépam) et n°23 (pour l'Oxazépam) peuvent dépasser légèrement les concentrations thérapeutiques décrites dans certaines des études, sans toutefois atteindre une dose toxique (30,66,67).

La stabilité au long terme des benzodiazépines a fait l'objet de plusieurs études antérieures à la nôtre. L'hydrolyse est la réaction de dégradation la plus importante

affectant les benzodiazépines. Les disparités de stabilité entre les différentes molécules sont attribuées à leur structure moléculaire.

Alfazil démontre ainsi la stabilité de l'Alprazolam sur tube fluoré à 4°C et -20°C, ainsi qu'une diminution d'environ 10 % à température ambiante. L'étude met en évidence une stabilité moindre du Lorazépam et de l'Oxazépam avec une diminution de 100% à température ambiante (stables à 20°C et moins stable à 4°C) (57).

Le Diazépam et le Nordazépam ne marquent que de très légers changements de concentration sur tube fluorés stockés à -20 °C sur une période de 16 à 18 ans. Leur grande stabilité a déjà été démontrée, alors que le clonazépam a montré une tendance à la diminution.

A l'inverse, il a été constaté une stabilité meilleure et plus homogène des différentes benzodiazépines sur des DBS de sang *post mortem* stockés à température ambiante jusqu'à trois mois. Seuls le midazolam (dégradé en une semaine), le Désalkymflurazépam et le Médazépam (diminué de plus de 50 % après trois mois) semblaient échapper à ce bénéfice (68).

Les échantillons de Zopiclone et de Zolpidem ont été rapportés comme étant peu stables (63). A l'inverse, notre étude relève deux cas (n°8 et 17) positifs pour le Zopiclone sur Mitra avec des concentrations indétectables sur le tube fluoré prélevé au même temps.

Nos résultats, à savoir une stabilité plus grande sur mitra, sont donc en accord avec les données de la littérature. L'utilisation de mitra doit être considérée dès lors qu'une intoxication aux benzodiazépines est suspectée.

### **Pour récapituler les principaux apports de notre approche :**

Cette étude éclaire les apports des micro-prélèvements sanguins en toxicologie médico-légale. Pour l'éthanol, l'absence de différence significative entre les micro-tubes et les tubes fluorés classiques confirme les connaissances actuelles sur la réduction du volume sanguin appliquée cette fois au sang post mortem. Concernant la 6-MAM, l'utilisation du Mitra permet de s'affranchir de la disparition attendue de cette molécule *in vitro*, il s'agit d'une avancée majeure dans le diagnostic de la consommation *ante-mortem* d'Héroïne. Les mêmes constatations sont faites pour la majorité des benzodiazépines de notre étude (Témazépam, Oxazépam, Alprazolam, Clonazépam, Lorazépam, Zopiclone et Bromazépam dans une moindre mesure). La cocaïne montre également une meilleure stabilité sur les Mitras et DBS. Enfin, nos résultats confirment les difficultés d'extraction du THC et de ses métabolites sur papier buvard et sur Mitra.

Dans l'utilisation courante, les Mitras et les DBS ne présentent pas de difficultés de manipulation. L'étude pilote a soulevé la possibilité d'une contamination des doigts lors du recueil du sang capillaire comme réalisé chez le sujet vivant. Le protocole de 2023 a démontré l'impossibilité du recueil de sang capillaire sur les orteils et les veines du pied se sont avérées être un site de prélèvement fastidieux et peu reproductible. Les différences de sites de prélèvement entre le sang fémoral et le sang encore plus périphérique (capillaire ou du pied) n'ont pas montré d'influence sur les concentrations trouvées ou leur variation. Nous proposons donc l'utilisation des micro-prélèvements sur du sang fémoral comme ce qui est déjà réalisé en routine.

La comparaison des concentrations des micro-prélèvements entre le temps précoce et le temps tardif a mis en évidence des variations interindividuelles

hétérogènes en sens et en proportion pour la Morphine, la Méthadone et la cocaïne, variations conformes à l'imprévisibilité de leur RPM. Le faible effectif de notre étude ne permet pas de généraliser nos résultats concernant la Codéine, également connue pour répondre aux mêmes changements de concentration. Trois cas d'éthanolémie sont aussi concernés par des variations relativement importantes, et un cas de Tramadol s'avère litigieux quant à l'imputabilité du décès aux concentrations trouvées sur son temps T2. Ces résultats doivent encourager à réaliser les prélèvements le plus tôt possible à l'arrivée du corps à l'IML ou en levée de corps.

La comparaison des concentrations moléculaires entre le micro-prélèvement et le tube fluoré constituait le but premier de notre étude. La littérature, récente pour les DBS et VAMS, était en faveur d'une meilleure stabilité sur ces supports pour la plupart des molécules. Nos résultats indiquent leur intérêt majeur pour l'Héroïne, la plupart des benzodiazépines et la cocaïne. Les micro-prélèvements constituent un choix alternatif pour l'éthanol, la Morphine, la Codéine, le Tramadol, avec l'avantage de répondre à des avantages écologiques et économiques en termes de stockage et de transport. Pour la Méthadone, il est à noter que les concentrations sur Mitra se sont révélées inférieures à celles du tube fluoré, et pourraient sous-estimer la concentration *ante-mortem*. Enfin, il existe une nette infériorité des Mitras et DBS pour le dépistage du Cannabis, en lien avec des difficultés d'extraction déjà connues.

### 3. Les limites de l'étude

#### 3.1 Effectifs

Il était attendu qu'une grande partie des échantillons prélevés ne fasse pas l'objet d'une mission d'expertise toxicologique. Notre rendement, entre les corps inclus et les expertises réalisés, était faible : de l'ordre de 50 %. En comparaison avec les effectifs des études prospectives de la littérature actuelle, notre effectif total s'avère

relativement important (35 cas, soit 105 échantillons au total). Cependant, les effectifs pour certaines molécules montrent des variations non systématiques entre les différents groupes d'échantillons ; ils sont insuffisants pour établir des résultats statistiquement significatifs et une interprétation solide (Tramadol, Méthadone, Codéine). Des études ciblées sur certaines molécules mériteraient d'être menées, d'autant que les études antérieures sur la stabilité des molécules sur DBS ou Mitra n'ont pas toutes été menées sur du sang *post mortem*. Le protocole *In Cadaver* doit être poursuivi et intégré aux pratiques courantes pour permettre une inclusion plus large.

### 3.2 Reproductibilité et données manquantes

Le protocole s'est montré relativement fastidieux et n'a pas été appliqué de manière systématique par les investigateurs, notamment concernant l'étiquetage. Cela a donné lieu à plusieurs données manquantes. Après analyse de tous les prélèvements, trois cas présentent des données manquantes potentiellement préjudiciables à notre interprétation (n°26, 24 et 25).

Les difficultés de réalisation sur le site de première intention, le pied, a conduit à des différences de sites de prélèvement entre le T1 et le T2, ainsi qu'à des tubes de sang majoritairement remplis au sang fémoral, ce qui n'était pas initialement désiré par notre protocole. Finalement, les interprétations n'ont pas été influencées par le site de prélèvement. La réalisation des prélèvements de sang capillaire, qui était à l'origine un argument de facilité chez le sujet vivant, s'avère difficile chez le défunt. Cette difficulté pourrait être surmontée en pratiquant tous les prélèvements en fémoral.

La présence d'une double inclusion rend également manquantes les DPM pour certains des échantillons prélevés en 2021, ce qui peut constituer un facteur limitant pour l'interprétation de certaines variations de concentration.

### 3.3 Analyse statistique

Une analyse de la variance (ANOVA) pour les comparaisons sur trois groupes de prélèvement, et un test Fisher pour les comparaisons sur deux groupes, ont été réalisés compte tenu de l'effectif relativement faible. Dans l'hypothèse d'effectifs plus importants, un test non paramétrique de type Wilcoxon devrait être utilisé pour des comparaisons par paires de deux échantillons dépendants (T1-T2 et Mitra-tube fluoré).

### 3.4 Ouverture

Notre étude comporte de nombreux paramètres répertoriés, elle omet toutefois le temps de conservation des prélèvements toxicologiques qui peut modifier l'interprétation des résultats.

Les sites de prélèvement ont été répertoriés ; une interprétation qualitative ou statistique pourra être réalisée sur les plus grand effectifs en comparant les variations de concentration en fonction des sites de prélèvement, fémoral ou du pied.

## V- CONCLUSION

La réalisation du prélèvement sanguin à visée toxicologique de qualité repose sur le médecin légiste qui choisit un site et un support de prélèvement les plus adaptés possibles. Ces choix influencent l'interprétation de l'analyse toxicologique alors que celle-ci est déjà soumise à de nombreuses variables (variabilité inter-individuelle de métabolisme et instabilité des molécules *in vitro*). La réflexion médico-légale concernant l'imputabilité ajoute des facteurs supplémentaires à prendre en considération : la tolérance éventuelle à la molécule trouvée, la présence d'une co-intoxication, le DPM de la réalisation du prélèvement, les redistributions *post mortem* respectives des molécules trouvées.

Nous avons proposé une approche susceptible de réduire l'instabilité *in vitro* des molécules par l'utilisation de micro-prélèvements : les VAMS et DBS. Pour compléter cette approche de réduction du volume sanguin, des micro tubes ont été utilisés pour l'éthanol. Nous avons mis en pratique leur utilisation à un temps précoce et sur du sang le plus périphérique possible afin de comparer le bénéfice de cette utilisation, décrite comme facilité pour l'interprétation des concentrations moléculaires, cela en s'exonérant au maximum du phénomène de RPM.

L'utilisation des Mitras et DBS ne présente pas de difficulté de manipulation, car le sang d'une ponction fémorale peut être utilisé pour leur remplissage. L'étude de leur utilisation en fonction du DPM confirme les variations de concentration imprévisible de certaines molécules et, dans certains cas, le bénéfice de la réalisation d'un prélèvement précoce afin d'approcher au mieux les concentrations *ante-mortem*.

Une stabilité excellente a été relevée sur le Mitra pour la 6-MAM, la cocaïne, l'alprazolam, le clonazépam, le Lorazépam, l'Oxazépam, le Témazépam et le Zopiclone. Cet apport est majeur dans la réflexion médico-légale dans la mesure où il

est observé une diminution drastique, voire la disparition, de la majorité de ces molécules sur tube fluoré. Ceci doit encourager à instaurer l'utilisation de ces supports en routine. Pour la plupart des molécules de notre étude, Cannabis excepté, les concentrations trouvées sont équivalentes sur une durée moyenne de quelques semaines lors d'un stockage à température ambiante. Les données de la littérature suggèrent une meilleure stabilité à long terme que sur les tubes fluorés devant faire considérer les Mitras et DBS comme une alternative. De manière générale, la diminution du volume sanguin est une réflexion à intégrer à nos pratiques médico-légales par soucis économique et écologique. Des études de non-infériorité combinant l'étude sur du sang *post mortem* et sur de longues durées de conservation seraient opportunes pour des molécules affichant des concentrations équivalentes. Ces études, ainsi que celles de supériorité pour les molécules les plus stables sur Mitra pourraient s'inscrire dans une prochaine édition des bonnes pratiques de prélèvement autopsiques de la SFTA près de trente ans après l'édition des recommandations en vigueur.

## VI- BIBLIOGRAPHIE

1. Pepin G, Deveaux M, Goulle JP, Kintz P. Les prelevements d'autopsie necessaires a la bonne execution des expertises toxicologiques.
2. Pélissier-Alicot AL, Gaulier JM, Champsaur P, Marquet P. Mechanisms Underlying Postmortem Redistribution of Drugs: A Review. *J Anal Toxicol* [Internet]. 1 nov 2003 [cité 7 déc 2023];27(8):533-44. Disponible sur: <https://doi.org/10.1093/jat/27.8.533>
3. Yarema MC, Becker CE. Key Concepts in Postmortem Drug Redistribution. *Clin Toxicol* [Internet]. janv 2005 [cité 7 déc 2023];43(4):235-41. Disponible sur: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1081/CLT-58950>
4. Pélissier-Alicot AL. La redistribution post mortem : état des lieux en 2016. *Toxicol Anal Clin* [Internet]. 1 juin 2016 [cité 21 juill 2024];28(2):103-14. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352007815002644>
5. Nicloux, M. (1936). Neof ormation d'alcool ethylique dans le cadavre humain en voie de putrefaction. *Compte Rendu des Seances de la Societe de Biologie*, 121, 975-8.
6. Mayes, R., B. Levine, M. L. Smith, G. N. Wagner, and R. Froede. 1992. Toxicologic findings in the USS Iowa disaster. *J. Fo rensic Sci.* 37:13521357.
7. Insights into the Origin of Postmortem Ethanol [Internet]. [cité 7 déc 2023]. Disponible sur: <https://journals.sagepub.com/doi/epub/10.1080/10915810590936391>
8. Oshaug K, Kronstrand R, Kugelberg FC, Kristoffersen L, Mørland J, Høiseth G. Frequency of postmortem ethanol formation in blood, urine and vitreous humor - Improving diagnostic accuracy with the use of ethylsulphate and putrefactive alcohols. *Forensic Sci Int.* févr 2022;331:111152.
9. Amick G, Habben K. Inhibition of Ethanol Production by *Saccharomyces cerevisiae* in Human Blood by Sodium Fluoride. *J Forensic Sci* [Internet]. 1 juill 1997 [cité 21 juill 2024];42(4):690-2. Disponible sur: <https://doi.org/10.1520/JFS14184J>
10. Nanikawa R, Moriya F, Hashimoto Y. Experimental studies on the mechanism of ethanol formation in corpses. *Z F o r Rechtsmed* [Internet]. août 1988 [cité 21 juill 2024];101(1). Disponible sur: <http://link.springer.com/10.1007/BF00205320>
11. Takayasu T, Ohshima T, Tanaka N, Maeda H, Kondo T, Nishigami J, et al. Postmortem degradation of administered ethanol-d6 and production of endogenous ethanol: experimental studies using rats and rabbits. *Forensic Sci Int* [Internet]. déc 1995 [cité 21 juill 2024];76(2):129-40. Disponible sur: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0379073895018077>
12. Lemaire E, Schmidt C, Dubois N, Denooz R, Charlier C, Boxho P. Site-, Technique-, and Time-Related Aspects of the Postmortem Redistribution of Diazepam, Methadone, Morphine, and their Metabolites: Interest of Popliteal Vein Blood Sampling. *J Forensic Sci.* nov 2017;62(6):1559-74.
13. Pelissier-Alicot AL, Gaulier JM, Champsaur P, Marquet P. Mécanismes de la redistribution post-mortem des xénobiotiques : le point sur l'état actuel des connaissances. *Ann Toxicol Anal* [Internet]. 2001 [cité 21 juill 2024];13(1):1-17. Disponible sur: <https://www.ata-journal.org/articles/ata/abs/2001/01/ata20011p1/ata20011p1.html>

14. Pepin G, Deveaux M, Gouille JP, Kintz P. LES PRELEVEMENTS D'AUTOPSIE NECESSAIRES A LA BONNE EXECUTION DES EXPERTISES TOXICOLOGIQUES.
15. Ben Yahyaten F, Labat L, Houzé P. Nouvelles applications des systèmes alternatifs de micro-prélèvements. *Rev Francoph Lab* [Internet]. oct 2021 [cité 1 janv 2024];2021(535):54-64. Disponible sur: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1773035X21002537>
16. Houzé P, Borowski I, Bito E, Magny R, Morcos A, Voicu S, et al. New Trend in Toxicological Screening Using Volumetric Absorptive Microsampling (VAMS) and High-Resolution Mass Spectrometry (HR/MS) Combination. *Molecules* [Internet]. 14 avr 2023 [cité 1 janv 2024];28(8):3466. Disponible sur: <https://www.mdpi.com/1420-3049/28/8/3466>
17. Wilkinson PK, Wagner JG, Sedman AJ. Sensitive head-space gas chromatographic method for the determination of ethanol utilizing capillary blood samples. *Anal Chem* [Internet]. 1 août 1975 [cité 22 déc 2023];47(9):1506-10. Disponible sur: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac60359a048>
18. R. B. Forney. Abstracts of Symposia and Contributed Papers Presented to APhA Academy of Pharmaceutical Sciences at the Meeting of the 118th Annual Meeting of the American Pharmaceutical Association, San Francisco, Calif., March 27-April 2, 1971, Vol. 1, No. 1, pp 28-29.
19. Savini F, Tartaglia A, Coccia L, Palestini D, D'Ovidio C, de Grazia U, et al. Ethanol Determination in Post-Mortem Samples: Correlation between Blood and Vitreous Humor Concentration. *Mol Basel Switz*. 12 juin 2020;25(12):2724.
20. O'Neal CL, Poklis A. Postmortem Production of Ethanol and Factors that Influence Interpretation: A Critical Review. *Am J Forensic Med Pathol* [Internet]. mars 1996 [cité 21 juill 2024];17(1):8. Disponible sur: [https://journals.lww.com/amjforensicmedicine/abstract/1996/03000/postmortem\\_production\\_of\\_ethanol\\_and\\_factors\\_that.2.aspx](https://journals.lww.com/amjforensicmedicine/abstract/1996/03000/postmortem_production_of_ethanol_and_factors_that.2.aspx)
21. Zumwalt, R. E., and R. O. Bost, and I. Sunshine. 1982. Evaluation of ethanol concentrations in decomposed bodies. *J. Forensic Sci*. 27:549–554.
22. Briglia E, Bidanset J, Dal Cortivo L. The Distribution of Ethanol in Postmortem Blood Specimens. *J Forensic Sci* [Internet]. 1 juill 1992 [cité 21 juill 2024];37(4):991-8. Disponible sur: <https://doi.org/10.1520/JFS13284J>
23. Hansen, A. C. 1994. Validity of postmortem alcohol determination. *Ugeskr. Laeger* 156:55–57.
24. Knight, B. 1996. Forensic aspects of alcohol. In *Forensic Pathology*, Arnold Editions.
25. Kennedy MC. Post-mortem drug concentrations. *Intern Med J* [Internet]. mars 2010 [cité 22 déc 2023];40(3):183-7. Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1445-5994.2009.02111.x>
26. Gaulier JM, Gish A, Ghoul C, Bertrand N Doye M, Girard H, Scavion Q, et al. Étude pilote du projet IN CADAVER : preuve de concept d'une voie future de la toxicologie post-mortem (et nouveau paradigme ?). *Toxicol Anal Clin* [Internet]. mai 2023 [cité 7 avr 2024];35(2):S25. Disponible sur: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2352007823000495>

27. Butzbach DM. The influence of putrefaction and sample storage on post-mortem toxicology results. *Forensic Sci Med Pathol* [Internet]. mars 2010 [cité 7 juill 2024];6(1):35-45. Disponible sur: <http://link.springer.com/10.1007/s12024-009-9130-8>
28. Logan B, Smirnow D. Postmortem Distribution and Redistribution of Morphine in Man. *J Forensic Sci* [Internet]. 1 mars 1996 [cité 21 juill 2024];41(2):37-46. Disponible sur: <https://doi.org/10.1520/JFS15417J>
29. Maskell PD, Wilson NE, Seetohul LN, Crichton ML, Beer LJ, Drummond G, et al. Postmortem tissue distribution of morphine and its metabolites in a series of heroin-related deaths. *Drug Test Anal* [Internet]. 2019 [cité 21 juill 2024];11(2):292-304. Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/dta.2492>
30. Schulz M, Iwersen-Bergmann S, Andresen H, Schmoldt A. Therapeutic and toxic blood concentrations of nearly 1,000 drugs and other xenobiotics. *Crit Care* [Internet]. 26 juill 2012 [cité 21 juill 2024];16(4):R136. Disponible sur: <https://doi.org/10.1186/cc11441>
31. Bouvet R, Baert A, Morel I, Le Gueut M. Décès et héroïne : proposition d'un guide d'aide au diagnostic. *Rev Médecine Légale* [Internet]. déc 2011 [cité 31 mars 2024];2(4):147-57. Disponible sur: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1878652911000976>
32. Goudie AJ, Griffiths JW. Behavioural factors in drug tolerance. *Trends Pharmacol Sci* [Internet]. 1 janv 1986 [cité 21 juill 2024];7:192-6. Disponible sur: [https://www.cell.com/trends/pharmacological-sciences/abstract/0165-6147\(86\)90311-1](https://www.cell.com/trends/pharmacological-sciences/abstract/0165-6147(86)90311-1)
33. Siegel S, Hinson RE, Krank MD, McCully J. Heroin « Overdose » Death: Contribution of Drug-Associated Environmental Cues. *Science* [Internet]. 23 avr 1982 [cité 21 juill 2024];216(4544):436-7. Disponible sur: <https://www.science.org/doi/abs/10.1126/science.7200260>
34. Gutiérrez-Cebollada J, de la Torre R, Ortuño J, Garcés JoséM, Camí J. Psychotropic drug consumption and other factors associated with heroin overdose. *Drug Alcohol Depend* [Internet]. 1 avr 1994 [cité 21 juill 2024];35(2):169-74. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0376871694901244>
35. Ingold FR. Study of deaths related to drug abuse in France and Europe. *Bull Narc*. 1 janv 1986;38(1-2):81-9.
36. O'Brien CP, Childress AR, McLellan AT, Ehrman R. A learning model of addiction. *Res Publ - Assoc Res Nerv Ment Dis*. 1 janv 1992;70:157-77.
37. Revol B, Willeman T, Manceau M, Dumestre-Toulet V, Gaulier JM, Fouilhé Sam-Laï N, et al. Trends in Fatal Poisoning Among Drug Users in France From 2011 to 2021. *JAMA Netw Open* [Internet]. 30 août 2023 [cité 7 avr 2024];6(8):e2331398. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10469283/>
38. Skopp G, Pötsch L, Klingmann A, Mattern R. Stability of Morphine, Morphine-3-Glucuronide, and Morphine-6-Glucuronide in Fresh Blood and Plasma and Postmortem Blood Samples. *J Anal Toxicol* [Internet]. 1 janv 2001 [cité 21 juill 2024];25(1):2-7. Disponible sur: <https://doi.org/10.1093/jat/25.1.2>

39. Stephenson L, Van Den Heuvel C, Scott T, Byard RW. Difficulties associated with the interpretation of postmortem toxicology. *J Anal Toxicol* [Internet]. 13 juill 2024 [cité 21 juill 2024];48(6):405-12. Disponible sur: <https://doi.org/10.1093/jat/bkae052>
40. Brockbals L, Staeheli SN, Gascho D, Ebert LC, Kraemer T, Steuer AE. Time-Dependent Postmortem Redistribution of Opioids in Blood and Alternative Matrices. *J Anal Toxicol*. 1 juill 2018;42(6):365-74.
41. Tolliver SS, Hearn WL, Furton KG. Evaluating the Relationship Between Postmortem and Antemortem Morphine and Codeine Concentrations in Whole Blood. *J Anal Toxicol* [Internet]. 1 oct 2010 [cité 21 juill 2024];34(8):491-7. Disponible sur: <https://doi.org/10.1093/jat/34.8.491>
42. Han E, Kim E, Hong H, Jeong S, Kim J, In S, et al. Evaluation of postmortem redistribution phenomena for commonly encountered drugs. *Forensic Sci Int* [Internet]. juin 2012 [cité 17 juill 2024];219(1-3):265-71. Disponible sur: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0379073812000199>
43. Brockbals L, Wartmann Y, Mantinieks D, Glowacki LL, Gerostamoulos D, Kraemer T, et al. Postmortem Metabolomics: Strategies to Assess Time-Dependent Postmortem Changes of Diazepam, Nordiazepam, Morphine, Codeine, Mirtazapine and Citalopram. *Metabolites* [Internet]. sept 2021 [cité 21 juill 2024];11(9):643. Disponible sur: <https://www.mdpi.com/2218-1989/11/9/643>
44. Wyman J, Bultman S. Postmortem Distribution of Heroin Metabolites in Femoral Blood, Liver, Cerebrospinal Fluid, and Vitreous Humor\*. *J Anal Toxicol* [Internet]. 1 mai 2004 [cité 1 avr 2024];28(4):260-3. Disponible sur: <http://academic.oup.com/jat/article/28/4/260/712755/Postmortem-Distribution-of-Heroin-Metabolites-in>
45. Thaulow CH, Høiseth G, Andersen JM, Handal M, Mørland J. Pharmacokinetic interactions between ethanol and heroin: A study on post-mortem cases. *Forensic Sci Int* [Internet]. 1 sept 2014 [cité 21 juill 2024];242:127-34. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0379073814002680>
46. Huertas T, Jurado C, Salguero M, Soriano T, Gamero J. Stability studies in biological fluids during post-analysis custody. Opiate compounds derived from heroin consumption. *Forensic Sci Int* [Internet]. 1 avr 2019 [cité 21 juill 2024];297:326-34. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0379073818310521>
47. Uges DRA et al., TIAFT reference blood level list of therapeutic and toxic substances. TIAFT, 22 juillet 2011 ; [www.tiaft.org](http://www.tiaft.org).
48. Brockbals L, Staeheli SN, Gascho D, Ebert LC, Kraemer T, Steuer AE. Time-Dependent Postmortem Redistribution of Opioids in Blood and Alternative Matrices. *J Anal Toxicol*. 1 juill 2018;42(6):365-74.
49. Roque Bravo R, Faria AC, Brito-da-Costa AM, Carmo H, Mladěnka P, Dias Da Silva D, et al. Cocaine: An Updated Overview on Chemistry, Detection, Biokinetics, and Pharmacotoxicological Aspects including Abuse Pattern. *Toxins* [Internet]. 13 avr 2022 [cité 1 avr 2024];14(4):278. Disponible sur: <https://www.mdpi.com/2072-6651/14/4/278>
50. Emaus RA, Borra LCP, Van Der Hulst R, Kloos DP, Rijken DJ, Elsinga PH, et al. Postmortem redistribution of cocaine and its metabolites, benzoylecgonine and ecgonine methyl ester in

humans: Important variables that might be influencing the central blood / peripheral blood ratio. *Forensic Sci Int* [Internet]. juill 2023 [cité 15 janv 2024];348:111707. Disponible sur: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0379073823001573>

51. Logan BK, Smirnow D, Gullberg RG. Lack of Predictable Site-Dependent Differences and Time-Dependent Changes in Postmortem Concentrations of Cocaine, Benzoylecgonine, and Cocaethylene in Humans. *J Anal Toxicol* [Internet]. 1 janv 1997 [cité 21 juill 2024];21(1):23-31. Disponible sur: <https://doi.org/10.1093/jat/21.1.23>
52. McKinney P, Phillips S, Gomez H, Brent J, MacIntyre M, Watson W. Vitreous Humor Cocaine and Metabolite Concentrations: Do Postmortem Specimens Reflect Blood Levels at the Time of Death? *J Forensic Sci* [Internet]. 1 janv 1995 [cité 21 juill 2024];40(1):102-7. Disponible sur: <https://doi.org/10.1520/JFS13770J>
53. Lange RA, Hillis LD. Sudden death in cocaine abusers. *Eur Heart J* [Internet]. 1 févr 2010 [cité 7 avr 2024];31(3):271-3. Disponible sur: <https://academic.oup.com/eurheartj/article-lookup/doi/10.1093/eurheartj/ehp503>
54. Mittleman R, Wetli C. Cocaine and Sudden “Natural” Death. *J Forensic Sci* [Internet]. 1 janv 1987 [cité 7 avr 2024];32(1):11-9. Disponible sur: <https://doi.org/10.1520/JFS12322J>
55. Mandrioli R, Mercolini L, Protti M. Blood and Plasma Volumetric Absorptive Microsampling (VAMS) Coupled to LC-MS/MS for the Forensic Assessment of Cocaine Consumption. *Molecules* [Internet]. 26 févr 2020 [cité 1 janv 2024];25(5):1046. Disponible sur: <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/5/1046>
56. Ellefsen KN, da Costa JL, Concheiro M, Anizan S, Barnes AJ, Pirard S, et al. Cocaine and Metabolite Concentrations in DBS and Venous Blood After Controlled Intravenous Cocaine Administration. *Bioanalysis* [Internet]. 1 sept 2015 [cité 21 juill 2024];7(16):2041-56. Disponible sur: <https://doi.org/10.4155/bio.15.127>
57. Alfazil AA. STABILITY OF DRUGS AND PESTICIDES OF FORENSIC TOXICOLOGICAL INTEREST AND THEIR METABOLITES IN BIOLOGICAL SAMPLES.
58. Moretti M, Visonà SD, Freni F, Tomaciello I, Vignali C, Groppi A, et al. A liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for the determination of cocaine and metabolites in blood and in dried blood spots collected from postmortem samples and evaluation of the stability over a 3-month period. *Drug Test Anal* [Internet]. 2018 [cité 21 juill 2024];10(9):1430-7. Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/dta.2399>
59. Hoffman MA, Trochta A, Gary RD, Fitzgerald RL, McIntyre IM. An evaluation of postmortem concentrations of  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol (THC) and 11-nor-9-carboxy- $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol (THCCOOH). *Forensic Sci Int* [Internet]. oct 2020 [cité 6 avr 2024];315:110414. Disponible sur: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0379073820302760>
60. Holland MG, Schwoppe DM, Stoppacher R, Gillen SB, Huestis MA. Postmortem redistribution of  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol (THC), 11-hydroxy-THC (11-OH-THC), and 11-nor-9-carboxy-THC (THCCOOH). *Forensic Sci Int* [Internet]. 10 oct 2011 [cité 20 nov 2023];212(1-3):247-51. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3413259/>
61. Tascon I, Côté C, Garneau B, Desharnais B, Gosselin V, Mireault P. Postmortem redistribution of cannabinoids: Statistical analysis of a novel dataset and meta-analysis. *Forensic Sci Int* [Internet].

déc 2023 [cité 6 avr 2024];353:111873. Disponible sur:  
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0379073823003237>

62. Pigliasco F, Barco S, Dubois S, Marchese F, Striano P, Lomonaco T, et al. Cannabidiol Determination on Peripheral Capillary Blood Using a Microsampling Method and Ultra-High-Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry with On-Line Sample Preparation. *Molecules* [Internet]. 8 août 2020 [cité 1 juin 2024];25(16):3608. Disponible sur: <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/16/3608>
63. Mestad IO, Gjelstad A, Pedersen-Bjergaard S, Øiestad EL. Green and sustainable drug analysis – Combining microsampling and microextraction of drugs of abuse. *Sustain Chem Pharm* [Internet]. déc 2021 [cité 1 juin 2024];24:100517. Disponible sur: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2352554121001443>
64. Joye T, Sidibé J, Déglon J, Karmime A, Sporkert F, Widmer C, et al. Liquid chromatography-high resolution mass spectrometry for broad-spectrum drug screening of dried blood spot as microsampling procedure. *Anal Chim Acta* [Internet]. 31 juill 2019 [cité 21 juill 2024];1063:110-6. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267019301850>
65. Lamaczová A, Malina T, Maršálková E, Odehnalová K, Opatřilová R, Přibilová P, et al. Anxiety in Duckweed–Metabolism and Effect of Diazepam on *Lemna minor*. *Water* [Internet]. 5 mai 2022 [cité 17 juill 2024];14(9):1484. Disponible sur: <https://www.mdpi.com/2073-4441/14/9/1484>
66. Guidelines for the Interpretation of Analytical Toxicology Results and Unit of Measurement Conversion Factors - R J Flanagan, 1998 [Internet]. [cité 21 juill 2024]. Disponible sur: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/000456329803500210>
67. Winek CL, Wahba WW, Winek CL, Balzer TW. Drug and chemical blood-level data 2001. *Forensic Sci Int* [Internet]. 1 nov 2001 [cité 21 juill 2024];122(2):107-23. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0379073801004832>
68. Karinen R, Andresen W, Smith-Kielland A, Mørland J. Long-Term Storage of Authentic Postmortem Forensic Blood Samples at  $-20^{\circ}\text{C}$ : Measured Concentrations of Benzodiazepines, Central Stimulants, Opioids and Certain Medicinal Drugs Before and After Storage for 16–18 Years. *J Anal Toxicol* [Internet]. 1 déc 2014 [cité 7 juill 2024];38(9):686-95. Disponible sur: <http://academic.oup.com/jat/article/38/9/686/2798004/LongTerm-Storage-of-Authentic-Postmortem-Forensic>
69. Hakim. F, Gaulier JM. Développement, validation, mise en œuvre et applications de méthodes de dosage de biomarqueurs de la consommation d'éthanol : phosphatidyléthanol sanguin <https://pepite.univ-lille.fr/ori-oai-search/notice/view/2022ULILS037>

## VII- ANNEXES

Les cas sont classés par ordre de Délai T1-T2.

Les concentrations présentant également une éthanolémie positives sont en jaune

TABLEAU 32 : CONCENTRATIONS D'ETHANOL

n°corps	DPM (heures)	Délai T1 - T2 (heures)	Ethanolémie microtube T1	Ethanolémie microtube T2	Ethanolémie tube classique
7	NC	6,5	1,95	2,03	2,03
33	61	16	1,08	1,44	1,14
1	NC	17	2,81	2,32	2,32
32	47	17	0,42	qi	1,08
35	20	17,5	qi	qi	0,53
34	21	20,5	0,56	0,56	0,73
23	17	45	4,03	5,04	4,26
9	59	48	0,62	0,42	0,48
3	NC	71	1,48	1,87	1,87
20	67	72	3,71	2,6	3,51
21	7	94	1,06	0,94	1,06
4	NC	119	1,1	1,09	0,95
26	DM	DM	coagulé	2,47	3,08

TABLEAU 33 : CONCENTRATIONS DE PETH 16 :0/18 :1

n°corps	DPM (heures)	Délai T1 - T2 (heures)	Peth 16:0/18:1 T1	Peth 16:0/18:1 T2
8	81	6	45	41
7	NC	6,5	1330	964
5	NC	14,5	66	58
33	61	16	280	370
1	NC	17	3470	4650
32	47	17	1470	820
35	20	17,5	750	2000
2	NC	18	5	0
15	34	18,5	18	16
34	21	20,5	57	141
17	67	21	37	0
10	37	22,5	454	414
18	54	22,5	59	9
24	96	27,75	24	8
23	17	45	666	626
22	26	45,5	41	29
31	66	46	663	1250
9	59	48	68	18
6	NC	63,5	14	33
30	17	68	146	216
20	67	71,8	1700	1970
28	17	87	20	24
29	17	89	41	26
21	7	94	114	73
4	NC	119	291	225
25	59	120	151	13
26	DM	DM	724	711

**TABLEAU 34 : CONCENTRATIONS DE PETH 16 :0/20 :4**

<b>n°corps</b>	<b>DPM (heures)</b>	<b>Délai T1 - T2 (heures)</b>	<b>Peth 16:0/20:4 T1</b>	<b>Peth 16:0/20:4 T2</b>
7	NC	6,5	465	186
33	20	16	38	70
1	NC	17	1030	1030
32	47	17	200	50
35	20	17,5	55	1650
2	NC	18	2	0
10	37	22,5	42	111
23	17	45	113	23
6	NC	63,5	6	8
20	67	71,8	568	500
4	NC	119	14	0
26	DM	DM	62	0

**TABLEAU 35 : CONCENTRATIONS D'ETHYGLUCORONIDE**

<b>n°corps</b>	<b>DPM (heures)</b>	<b>Délai T1 - T2 (heures)</b>	<b>EtG S T1</b>	<b>EtG S T2</b>
7	NC	6,5	20200	14700
5	NC	14,5	476	367
33	61	16	1040	1350
1	NC	17	334000	324000
32	47	17	2000	500
35	20	17,5	70	238
34	21	20,5	43	24
10	37	22,5	220	611
18	54	22,5	129	888
24	96	27,75	23	0
23	17	45	6780	2170
22	26	45,5	28	28
31	66	46	18	10
20	67	71,8	9510	5000
21	7	94	649	553
4	NC	119	1470	2270
26	DM	DM	1920	1960

**TABLEAU 36 : CONCENTRATIONS DE MORPHINE**

n°corps	DPM (heures)	Délai T1 - T2 (heures)	Morphine T1	Morphine T2	Morphine classique
11	81	22,75	42	10,5	80
6	9	63,5	68	140	82
20	26	71,5	12	43	0
4	NC	119	19,1	25,8	34

**TABLEAU 37 : CONCENTRATIONS DE CODEINE**

n°corps	DPM (heures)	Délai T1 - T2 (heures)	Codéine T1	Codéine T2	Codéine classique
11	81	22,75	4,9	4,2	12
6	9	63,5	5	7	7
20	26	71,5	2,2	13,9	0
4	NC	119	3,6	4,7	4,8

**TABLEAU 38 : CONCENTRATIONS DE 6-MAM**

n°corps	DPM (heures)	Délai T1 - T2 (heures)	6-MAM T1	6-MAM T2	6-MAM classique
11	81	22,75	1,6	3,1	0
6	9	63,5	10	47	3
4	NC	119	3,8	13,4	0

**TABLEAU 39 : CONCENTRATIONS DE METHADONE**

n°corps	DPM (heures)	Délai T1 - T2 (heures)	Méthadone T1	Méthadone T2	Méthadone Classique
5	NC	14,5	17,8	37	85
32	47	17	103	23	205
35	20	17,5	59	110	227
34	21	20,5	200	200	636
22	26	45,5	1000	396	557
30	17	62	78	44	178
20	67	71,8	43	48	190
4	NC	119	86,4	118	84

**TABLEAU 40 : CONCENTRATIONS D'EDDP**

n°corps	DPM (heures)	Délai T1 - T2 (heures)	EDDP T1	EDDP T2	EDDP Classique
5	NC	14,5	7,6	6,1	9,2
32	47	17	8,6	3	9
35	20	17,5	9	11	16
34	21	20,5	40	54	134
22	26	45,5	204	108	40
30	17	62	9	7	173
20	67	71,8	9	12	8
4	NC	119	35	46	11

**TABLEAU 41 : CONCENTRATIONS DE COCAÏNE**

n°corps	DPM (heures)	Délai T1 - T2 (heures)	Cocaïne T1	Cocaïne T2	Cocaïne classique
5	NC	14,5	1000	12,6	3,2
32	47	17	60	44	8
35	20	17,5	4,5	1,4	68
34	21	20,5	60	33	6,2
22	26	45,5	1000	915	1,4
6	NC	63,5	20	97	17
20	67	71,8	91	952	2
12	11	117	77	400	37
4	NC	119	12,3	49	0

**TABLEAU 42 : CONCENTRATIONS D'EME**

n°corps	DPM (heures)	Délai T1 - T2 (heures)	EME T1	EME T2	EME classique
5	NC	14,5	1000	60	92,8
32	47	17	76	29	109
35	20	17,5	0,25	10	9
34	21	20,5	73	70	112
22	26	45,5	1000	401	254
6	9	63,5	18	60	129
20	67	71,8	201	510	32
12	11	117	240	240	1100

**TABLEAU 43 : CONCENTRATIONS DE BZE**

n°corps	DPM (heures)	Délai T1 - T2 (heures)	BZE T1	BZE T2	BZE classique
5	NC	14,5	1000	699	619
32	47	17	563	344	1170
35	20	17,5	6,4	4,7	30
34	21	20,5	474	479	653
22	26	45,5	1000	1000	1000
6	NC	63,5	378	731	473
20	67	71,8	177	851	103
12	11	117	1000	1000	3660
4	NC	119	18,4	72	0

**TABLEAU 44 : CONCENTRATIONS DE COCAETHYLENE**

n°corps	DPM (heures)	Délai T1 - T2 (heures)	Cocaéthylène T1	Cocaéthylène T2	Cocaéthylène classique
5	NC	14,5	6,1	0	0
32	47	17	présence	présence	10
34	21	20,5	présence	présence	présence
22	26	45,5	127	19,4	présence
20	67	71,8	5,4	40	13

**TABLEAU 45 : CONCENTRATIONS DE THC**

n°corps	DPM (heures)	Délai T1 - T2 (heures)	THC T1	THC T2	THC classique
8	81	6	0,8	1	5,9
9	34	48	17	5,1	41

**TABLEAU 46 : CONCENTRATIONS DE THC-OH**

n°corps	DPM (heures)	Délai T1 - T2 (heures)	THC-OH T1	THC-OH T2	THC-OH classique
8	81	6	0,9	0	0,9
9	34	48	2,3	2,6	27

**TABLEAU 47 : CONCENTRATIONS DE THC-COOH**

n°corps	DPM (heures)	Délai T1 - T2 (heures)	THC-COOH T1	THC-COOH T2	THC-COOH classique
8	81	6	6	7	11,9
9	34	48	22	26	300
4	NC	119	5,2	6	15,1

TABLEAU 48 : CONCENTRATIONS D'ALPRAZOLAM

n°corps	DPM (heures)	Délai T1 - T2 (heures)	Alprazolam T1	Alprazolam T2	Alprazolam classique
8	81	6	28	35	4
24	59	27,75	48	31	0
23	17	45	134	91,4	0

TABLEAU 49 : CONCENTRATIONS DE TEMAZEPAM

n°corps	DPM (heures)	Délai T1 - T2 (heures)	Bromazépam T1	Bromazépam T2	Bromazépam classique
33	61	16	427	462	291
23	17	45	1540	1010	443

TABLEAU 50 : CONCENTRATIONS DE CLONAZEPAM

n°corps	DPM (heures)	Délai T1 - T2 (heures)	Clonazepam T1	Clonazepam T2	Clonazepam classique
22	26	45,5	29	7,3	0

TABLEAU 51 : CONCENTRATIONS DE 7-CLONAZEPAM

n°corps	DPM (heures)	Délai T1 - T2 (heures)	7-clona T1	7-clona T2	7-clona classique
5	NC	71	9,5	32,4	20

**TABLEAU 52 : CONCENTRATIONS DE DIAZEPAM**

n°corps	DPM (heures)	Délai T1 - T2 (heures)	Diazepam T1	Diazepam T2	Diazepam classique
1	28,5	17	37	44	36
35	20	17,5	75	88	147
34	21	20,5	263	474	1230
22	26	45,5	58	Traçes	0
31	66	46	21	9	9
30	17	62	152	54	158
20	67	71,8	Traçes	Traçes	0

**TABLEAU 53 : CONCENTRATIONS DE LORAZEPAM**

n°corps	DPM (heures)	Délai T1 - T2 (heures)	Lorazépam T1	Lorazépam T2	Lorazépam classique
8	81	6	110	153	0
17	67	21	210	100	4
22	26	45,5	22,1	0	0
25	59	120	132	200	0

**TABLEAU 54 : CONCENTRATIONS DE NORDAZEPAM**

n°corps	DPM (heures)	Délai T1 - T2 (heures)	Nordazéпам T1	Nordazéпам T2	Nordazéпам classique
1	NC	17	45,7	57,5	38
35	20	17,5	113	177	147
34	21	20,5	1100	1250	1220
17	67	21	228	115	455
31	66	46	155	94	34
30	17	62	403	224	241
3 (NEO)	NC	71	15	38	0
3 (DBS)	NC	71	15	31	0
4	NC	119	390	429	121

**TABLEAU 55 : CONCENTRATIONS DE TEMAZEPAM**

n°corps	DPM (heures)	Délai T1 - T2 (heures)	Temazéпам T1	Temazéпам T2	Temazéпам classique
34	21	20,5	40	44	0,25
30	17	62	6,4	4	0

**TABLEAU 56 : CONCENTRATIONS DE OXAZEPAM**

n°corps	DPM (heures)	Délai T1 - T2 (heures)	Oxazéпам T1	Oxazéпам T2	Oxazéпам classique
33	NC	16	341	282	71
35	20	17,5	traces	traces	0,25
34	21	20,5	50	45	0,25
17	67	21	Traçes	0	0
23	17	45	1100	600	0,25
22	26	45,3	559	48	0
30	17	62	6,5	5,4	0
3 (NEO)	NC	71	532	805	158
3 (DBS)	NC	71	462	767	158
20		71,8	Traçes	Traçes	0
4	NC	119	Traçes	Traçes	0

**TABLEAU 57 : CONCENTRATIONS DE ZOPICLONE**

n°corps	DPM (heures)	Délai T1 - T2 (heures)	Zopiclone T1	Zopiclone T2	Zopiclone classique
8	81	6	14	27	0
35	20	17,5	traces	traces	0,25
17	67	21	46	11	0
22	26	45,3	9	0	0

**AUTEUR : Nom :** NDOYE, usage BERTRAND-NDOYE **Prénom :** Myriam

**Date de Soutenance :** 26 septembre 2024

**Titre de la Thèse :** Utilisation des micro-prélèvements sanguins en thanatologie  
médicolégale

**Thèse - Médecine - Lille 2024**

**Cadre de classement :** Médecine Légale

**DES + FST ou option :** Médecine Légale et Expertise Médicale

**Mots-clés :** Toxicologie-Prélèvement Sanguin- post mortem-VAMS-DBS.

**Contexte :** En thanatologie, les prélèvements sont conservés durant de longues durées engendrant des coûts de transport et stockage. Ils sont analysés lors d'une réflexion soumise à de nombreuses variables d'interprétation.

Le développement des méthodes analytiques toxicologiques a permis la réduction du volume sanguin nécessaire au prélèvement. Ces supports ne sont pas encore utilisés dans la pratique courante. Ce travail a pour objectif d'éprouver leur utilisation en routine. Il effectue une comparaison entre les concentrations des micro-prélèvements en fonction du délai *post mortem* et compare également ces concentrations à celles des prélèvements classiques.

**Méthode :** Cette étude est qualitative, quantitative et analytique. Elle a été menée de manière prospective à l'IML du CHU de Lille sur deux périodes d'inclusion (02/2021-05/2021 et 04/2023-12/2023).

Les prélèvements sur micro échantillons de sang périphérique ont été réalisés à un temps le plus précoce possible après l'admission du corps à l'IML (T1) et à un temps plus tardif lors de l'autopsie (T2). Le délai *post mortem*, le  $\Delta T1-T2$  et le site de prélèvements ont été étudiés. Les micro-prélèvements ont été stockés à température ambiante, les tubes de sang ont été conservés à 4 °C. Six catégories de molécules, soit 30 au total, ont été dosées.

**Résultats :** 35 cas de trois prélèvements (T1, T2 et classiques) ont fait l'objet d'une analyse toxicologique avant d'être comparés.

Les molécules soumises aux effets de la redistribution *post mortem* ont montré des variations hétérogènes dans leurs sens et leurs proportions, confirmant l'intérêt d'un prélèvement précoce.

Lors de la comparaison des concentrations entre le micro-prélèvement et le tube fluoré, notre étude a relevé des concentrations équivalentes pour l'éthanol et ses métabolites, la Morphine, la Codéine et le Tramadol. L'Héroïne, la cocaïne et la plupart des benzodiazépines montraient une excellente stabilité sur micro-prélèvement et une disparition sur tube fluoré. L'étude a confirmé les difficultés d'extraction du THC sur micro-prélèvement.

**Conclusion :** Les micro-prélèvements sont un apport majeur pour le dosage de l'Héroïne, la cocaïne et les benzodiazépines qui sont instables *in vitro*. Le faible volume de sang requis pour leur remplissage permet une utilisation facilitée en levée de corps. La possibilité de stockage à température ambiante pourrait avoir un impact important tant économique qu'écologique.

**Composition du Jury :**

**Président :** Monsieur le Professeur Valéry Hédouin

**Assesseurs :** Monsieur le Docteur Jean-Michel Gaulier  
Monsieur le Docteur Yann Delannoy

**Directeur :** Monsieur le Docteur Hugo Girard