Tests salivaires de dépistage : intérêts et limites

Pr. A.-L. Pélissier-Alicot

UF de Toxicologie Médicolégale, Service de Médecine légale, AP-HM, Marseille

Pourquoi effectuer un dépistage ?

- Pour prévenir les risques liés à la consommation de substances psychoactives (SPA)
- Le risque majeur est l'accident (travail/trajet)
- L'accident peut survenir lors d'un usage ponctuel comme d'un usage régulier
- L'accident n'est pas forcément en lien avec une éventuelle conduite addictive
  - Etre sous influence ≠ être addict
- L'accident peut impliquer un salarié, un collaborateur ou un tiers

Pourquoi effectuer un dépistage ?

- Quels sont les postes à risque élevé ?
  - Les postes à haut degré de vigilance (conduite de véhicules, postes de surveillance)
  - Le travail de nuit/posté
  - Le travail isolé
  - Les postes à responsabilités élevées (stress, obligation de résultat)

Pourquoi effectuer un dépistage ?

- Quelles sont les composantes de la performance impactées ?
  - **La vigilance**, ou capacité à détecter des informations brèves et/ou rares au cours d'une situation prolongée
  - **L'attention**, ou capacité à réagir à des stimuli multiples, avec une fréquence élevée, dans un environnement riche en informations
  - **La qualité d'exécution psychomotrice**, caractérisée par un délai adapté entre la décision d'exécution et la réalisation effective de la réponse motrice
  - **La prise de risque**, liée à la composante inhibition-désinhibition

Pourquoi effectuer un dépistage ?

- Quels sont les risques autres que l’accident ?
  - Diminution des performances professionnelles
  - Prise de décisions erronées
  - Stress / violence / harcèlement
  - Absentéisme
  - Dépression

Quelles molécules impliquées ?

- L'alcool
  - Risque accidentogène majeur
  - Effets variables selon la concentration

Stade	Manifestations cliniques
Infraclinique (0,1 à 0,3 g/L)	Pas de manifestation clinique franche
Euphorie (0,3 à 0,9 g/L)	Incoordination motrice, levée des inhibitions, baisse de l'attention
Ebriété (0,9 à 0,2 g/L)	Troubles visuels, augmentation du temps de réaction, euphorie, agressivité, excitation
Ivresse (1,5 à 3 g/L)	Désorientation temporo-spatiale, démarche ébrieuse, troubles visuels nets, confusion
Stupeur (2,5 à 4 g/L)	Troubles de la conscience, troubles moteurs, vomissements, incontinence, hypoglycémie
Coma (3,5 à 5 g/L)	Coma calme, hypotonique, hyporéflexique, hypothermie, dépression respiratoire, décès

Quelles molécules impliquées ?

- Le cannabis
  - Risque accidentogène majeur surtout si alcool associé
  - Distorsion des perceptions temporospatiales
  - Troubles de la concentration
  - Troubles de la coordination psychomotrice
  - Augmentation du temps de réaction
  - Troubles de la mémoire à court terme
  - Troubles visuels (diplopie, nystagmus, trouble de la vision des couleurs)
  - Troubles dissociatifs avec agressivité

Quelles molécules impliquées ?

- Les psychostimulants
  - Cocaïne/crack, amphétamines (ecstasy)
  - Agitation psychomotrice
  - Sensation d'hypervigilance
  - Troubles de la concentration
  - Altération du jugement
  - Augmentation de la prise de risque
  - Dilatation pupillaire avec diminution de l'adaptation à la lumière

Quelles molécules impliquées ?

- Les opioïdes
  - Illicites / stupéfiants de prescription
  - Ralentissement psychomoteur
  - Augmentation du temps de réaction
  - Diminution de la prise de risque
  - Troubles de la coordination
  - Somnolence

Quelles molécules impliquées ?

- Les benzodiazépines
  - Troubles de l’attention
  - Troubles de la mémoire
  - Troubles de la vigilance
  - Perturbations des capacités décisionnelles
  - Altérations des capacités psychomotrices
  - Effets paradoxaux avec excitation, confusion et agressivité
- Autres sédatifs/hypnotiques/anxiolytiques

Quelles sont les molécules recherchées ?

- L'alcool → éthylotest, air expiré
- Le cannabis
- Les cocaïniques
- Les opioïdes
- Les stimulants

Dépistage immunologique
Urine, salive

- Dépistage de « classe »
- Réaction antigène - anticorps
- Manque de spécificité

Pourquoi utiliser la salive ?

- Les avantages sont essentiellement liés au mode de prélèvement
  - Facile à réaliser (/sang et urine)
  - Non invasif (/sang)
  - Difficile à adultérer (/urine)
  - Respectueux de l'intimité de la personne (/urine)
  - Acceptable d'un point de vue éthique
- Utilisée en France dans le cadre de la sécurité routière
- Reconnue par la SAMHSA*

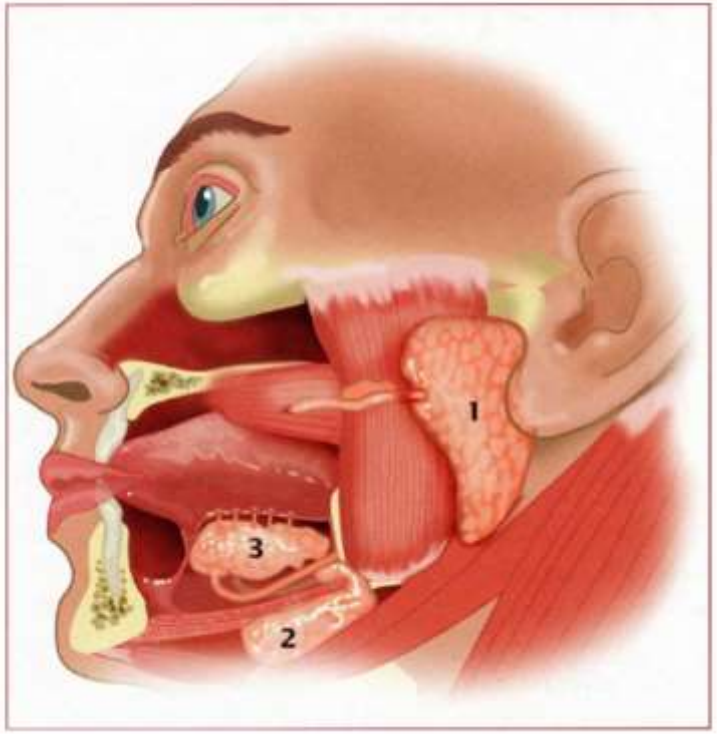
**Substance Abuse and Mental Health Services Administration*

Quelles sont les difficultés ?

- Variabilité de la composition de la salive
- Difficultés liées au type de prélèvement
- Variabilité des concentrations des différentes molécules
- Risque de contamination passive
- Difficultés de corrélation aux concentrations sanguines

La composition du fluide oral

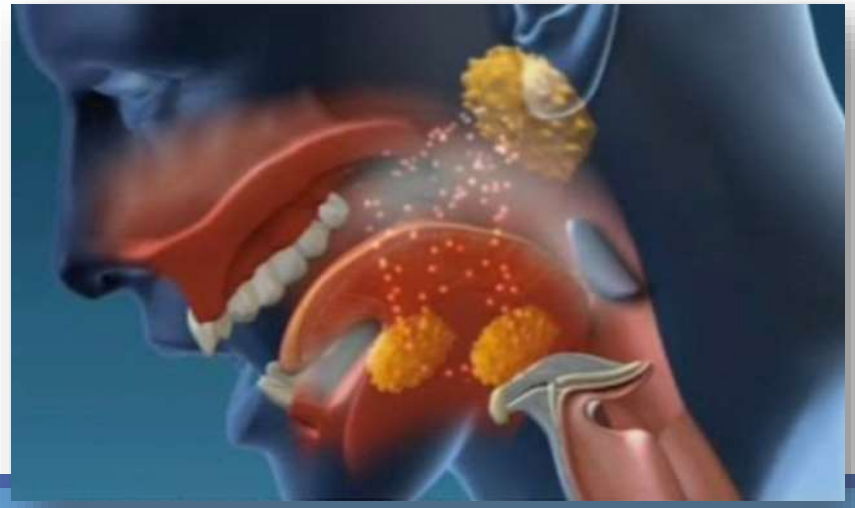
- Sécrétion de la salive primaire
  - Submandibulaires (2) : 65%
  - Parotides (1) : 23%
  - Sublinguales (3) : 4%
  - Glandes accessoires : 8%
- Production : 0,5 - 1,5 L/h
- pH
  - Sécrétion de repos : 6,8
  - Sécrétion active : 7,8 - 8



Aps JKM & Martens LC. Forensic Sci Int 2005;150:119-31

La composition du fluide oral

- Composition du fluide oral
  - Salive primaire
    - Eau,
    - Electrolytes
    - Enzymes
  - Fluide créviculaire
  - Cellules épithéliales
  - Résidus alimentaires
  - Erythrocytes
  - Leucocytes
  - Bactéries
  - Immunoglobulines
  - ADN



La composition du fluide oral

- Système nerveux autonome et salivation
  - Parasympathique (glossopharyngien IX et facial VII) ↗ la sécrétion salivaire :
    → salive séreuse, fluide et abondante
  - Sympathique (ganglion cervical supérieur) ↘ la sécrétion salivaire :
    → salive peu abondante, épaisse, riche en mucus
  - <u>Lors d'un stress, la stimulation sympathique diminue la sécrétion salivaire</u>
  - <u>Or le prélèvement constitue généralement un facteur de stress</u>

Composition du fluide oral

- Influence des xénobiotiques
  - Un grand nombre de médicaments réduisent le débit salivaire
  - Quelques médicaments augmentent le débit salivaire
  - La majorité des stupéfiants réduisent le débit salivaire (cocaïne, cannabis, amphétamines, opiacés)

Analgesics	Antihypertensives	Cytotoxics
Antiarrhythmics	Anti nausea agents	Decongestives
Anticonvulsants	Anti-Parkinson agents	Diuretics
Antidepressives	Anti pruretics	Expectorants
Antiemetics	Antipsychotics	Mono-amine-oxidase inhibitors
Antihistamines	Anti spasmodics	Tranquilizers

Aps JKM & Martens LC. Forensic Sci Int 2005;150:119-31

Le mode de recueil de la salive

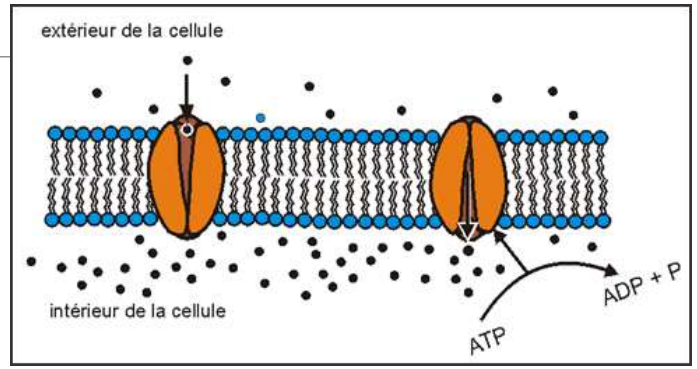
- Différentes modalités de recueil
  - Recueil de crachats sans stimulation : difficile, notamment en raison du stress
  - Recueil après stimulation acide : jus de citron
  - Recueil après stimulation non acide : téflon, paraffine
  - Recueil après stimulation et adsorption sur coton (Salivette)
  - Ecouvillonnage
  - Conservation dans un tampon

Influence du mode de recueil

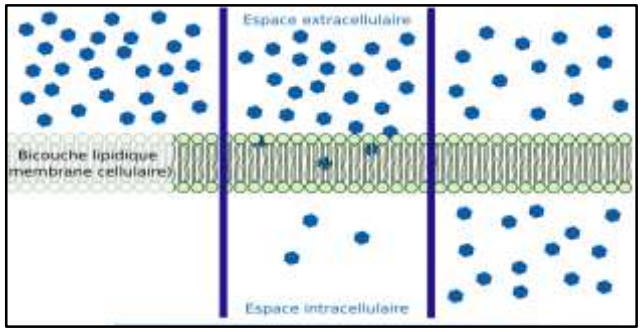
- Recueil après stimulation (acide)
  - Augmente le volume
  - Diminue la concentration (cas de la codéine)
  - Interférence avec les tests immunologiques
  - Adsorption sur les tampons en coton
- Conservation dans un tampon
  - Dilution
- Ecouvillonnage
  - Volume recueilli ??

Variabilité des concentrations

- Différents mécanismes / molécules concernées
  - Filtration
  - Transport actif
  - Diffusion passive
    - Fraction libre non ionisée dans le plasma
    - pH salive
    - Débit salivaire
    - Taille de la molécule
    - pKa
    - Liposolubilité
    - Poids moléculaire
    - configuration spatiale



Transport actif

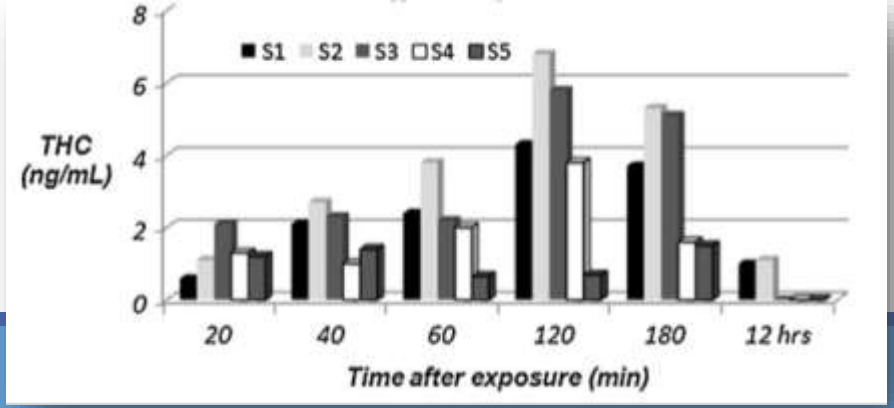


Diffusion passive

Contamination de la cavité buccale

- Lors de l'absorption par voie orale, nasale ou pulmonaire
  - Augmentation des concentrations salivaires / concentrations plasmatiques
  - Décrit pour le THC, la cocaïne, morphine, 6-MAM, codéine etc.
  - Phénomène à prendre en compte dans l'interprétation
- Atmosphère enfumée
  - Augmentation des concentrations salivaires / concentrations plasmatiques
- Identification des métabolites (cannabis)

Moore C. et al. Forensic Sci Int 2011;212:227-30



Rapport des concentrations

- Les concentrations salivaires sont-elles le reflet des concentrations plasmatiques ?
  - En théorie, les concentrations salivaires ≈ concentrations plasmatiques
  - Après la fin de la phase de contamination orale, les concentrations salivaires devraient être corrélées aux concentrations plasmatiques
  - En pratique, les concentrations salivaires sont plus élevées, surtout pour les molécules basiques, et les cinétiques différentes
  - Corrélation très variable avec les effets cliniques

Research article

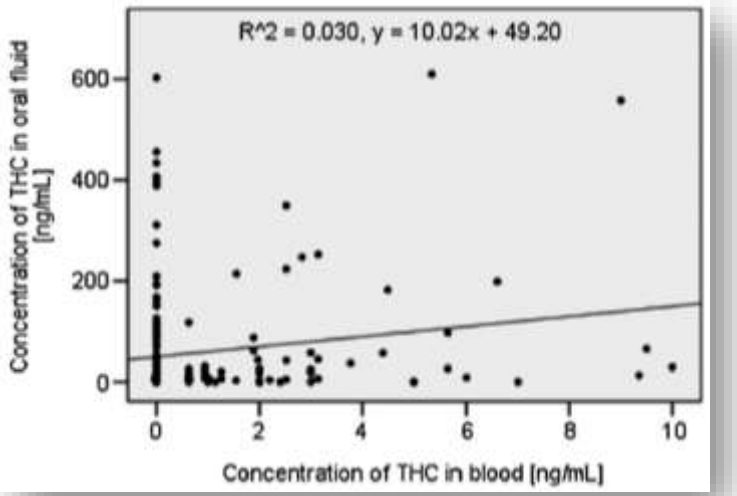
Drug Testing and Analysis

Received: 2 May 2013 Revised: 8 August 2013 Accepted: 8 August 2013 Published online in Wiley Online Library: 9 September 2013

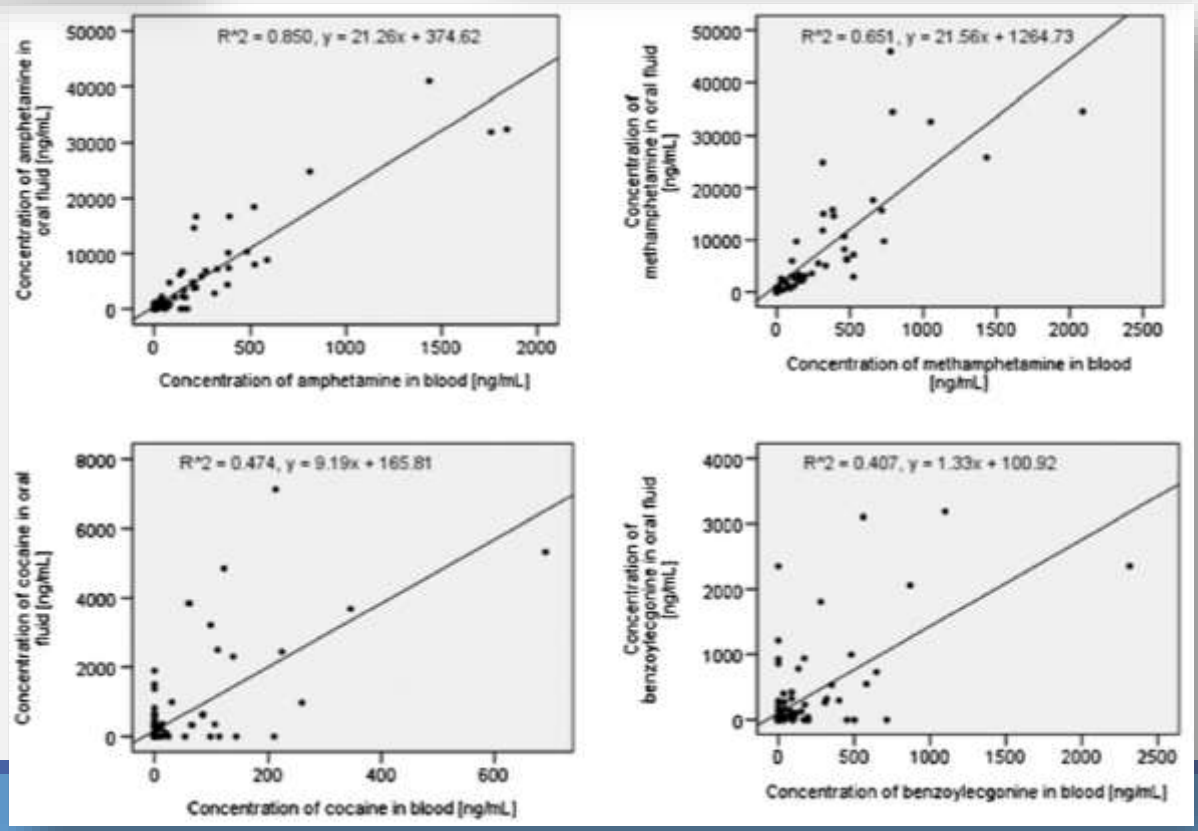
(www.drugtestinganalysis.com) DOI 10.1002/dta.1532

Comparison of drug concentrations between whole blood and oral fluid

Kaarina Langel,[a*] Hallvard Gjerde,[b] Donata Favretto,[c] Pirjo Lillsunde,[d] Elisabeth Leere Øiestad,[b] Santo Davide Ferrara[c] and Alain G. Verstraete[e]



Analyte	Théorique (FO/plasma)	Médiane	Intervalle	Max/min
Amphétamine	2,2	19	3,3 - 78	24
Alprazolam		0,33	0,029 – 2,2	76
Diazepam		0,035	0,020 – 0,34	17
Zopiclone		2,4	1,3 – 4,7	4
Cocaine	3,8	17	1,2 - 63	52
Benzoylecgonine		1,7	0,18 - 31	172
THC	0,1	14	1,0 - 190	190
Morphine	1,2	6,4	0,58 - 37	64
Codeine	3,3	4,8	0,17 - 47	276



Fenêtre de détection dans la salive

- Cheveux >> urines >> salive > sang

Molécule	Dose (mg)	Seuil (µg/L)	Fenêtre cde détection (heures)
Amphétamine	10 – 20	10	20 – 50
MDMA	100 PO	100	24
THC	Joint 6,8%	1 - 20	3 – 6
Cocaïne	25 - 42 IV/IN/FU	5 - 10	4 - 12
Benzoylecgonine	25 IV	1	28 - 33 Maximale: 10 jours
6-acétylmorphine	20 héroïne IV	1	0,5 - 8
Morphine	20 IM	1	12 - 24
Codéïne	60 mg PO	2,5	21

Limites du dépistage immunologique

- Dépistage de classe (opiacés / amphétamines)
- Sensibilité correcte (risque de faux négatifs faible)
- Mauvaise spécificité (risque +++ de faux positifs)
- Pas de quantification précise
- Pas de métabolites
- Problème du seuil de dangerosité
- Distinction entre « avoir fait usage » et « être sous influence »

Confirmation après dépistage positif

- Seule une confirmation par une technique chromatographique permettra de déterminer
  - La nature exacte de la molécule
  - Sa concentration
  - Son éventuelle dangerosité
  - Doser les métabolites (éliminer une contamination passive)
- Dans quel milieu biologique effectuer la confirmation ?
  - Le sang ?
  - La salive ?

Confirmation après dépistage positif

- Confirmation sanguine
  - Gold standard en termes d'interprétation
  - Nécessité d'un prélèvement sanguin après dépistage positif
  - Procédure compliquée en pratique quotidienne
- Confirmation salivaire
  - Moins précise que le sang en termes d'interprétation
  - Analyse à partir du prélèvement salivaire initial (si conservation dans un tampon)
  - Stabilité du prélèvement initial ?
  - Procédure plus simple que le prélèvement sanguin

Au total

- Le dépistage immunologique dans la salive est facile à réaliser et acceptable pour l'individu
- L'interprétation est complexe car
  - La composition de la salive est variable
  - Les modalités de réalisation du prélèvement peuvent influencer le résultat
  - Le risque de contamination passive est élevé, notamment pour le cannabis
  - La corrélation aux concentrations sanguines n'est pas formellement établie
- Un dépistage ne permet pas d'affirmer que le sujet est sous influence
- Une confirmation est donc nécessaire