

**Compte-rendu de la réunion du groupe de travail  
TOXICOLOGIE JUDICIAIRE  
du 27 janvier 2005 à Paris**

**Responsable :** G. Pépin

**Présents :** V. Dumestre, M. Lhermitte, C. Coquel (suppléante de M-H. Ghysel), Y. Ricordel, A. Lebouil, M. Mercerolle (remplacant JM Gaulier) P. Mura, M. Perrin, H. Eysseric,

**Excusés :** C. Charlier, P. Kintz, J-P. Goullé, A. Gruson

**1. Stabilité des cyanures dans le sang de cadavre et dans les prélèvements (+4°C et – 20°C) M. Lhermitte et G. Pépin**

D'après une étude de 7 cas réels sur sang post-mortem sans NaF (G. Pépin), 5 cas réels sur sang fluorés avec NaF (JP Goullé) et 4 cas sur sang hépariné ou fluoré (JM Gaulier) la stabilité des cyanures est variable : chute au bout de 2 mois, augmentation brusque ou stabilité relative pour d'autres cas. Cependant, on observe le plus souvent que globalement, **si la valeur de départ est faible, elle reste stable et que si la valeur de départ est forte, elle chute.**

**Participation des membres du groupe de travail :**

Il est proposé à tous les membres de la commission que **chacun participe en étudiant la stabilité de ses propres échantillons réels** : à chaque occasion de dosage, les cas précédents conservés à +4°C et/ou –20°C sont contrôlés. Ou sinon, prévoir un dosage par trimestre sur une période de 1 an.

Parallèlement, un aliquot de 500 µl de sang pour chaque cas étudié doit être envoyé à Michel Lhermitte pour mise en culture et recherche bactériologique. En effet, certaines bactéries produisent des cyanures et d'autres les détruisent

Bactéries productrices de cyanures :

- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Pseudomonas fluorescens*
- *Chromobacterium violaceum*

Bactéries utilisatrices de cyanures pour leur métabolisme

- *A chromobacter*
- *Bacillus cereus*
- *Chromobacterium violaceum*

Bactéries detoxifiant la présence de cyanure

- *Bacillus*
- *Thiobacillus*
- *E. Coli*

4 prélèvements ont été fournis par JM GAULIER. Les analyses ont permis de mettre en évidence sur un seul prélèvement des bactéries *HAFNIA ALVEZI* (entérobactéries) et *Pseudomonas aeruginosa*.

**REFERENCES :**

1. Christopher J. Knowles. Microorganisms and Cyanide. Bacteriological Reviews, Sept. 1976, p. 652-680.
2. Ronald S Oremland and John F. Stolz. Arsenic, microbes and contaminated aquifers. Trends in Microbiology; Vol. 13 N°2, February 2005.

3. Siller H., Winter J. Degradation of cyanide in agroindustrial or industrial wastewater in an acidification reactor or in a single-step methane reactor by bacteria enriched from soil and peels of cassava. *Appl Microbiol Biotechnol* 1998. Sep;50(3):284-9.
4. Watanabe A, Yano K, Ikebukuro K, Karube I. Cyanide hydrolysis in a cyanide-degrading bacterium, *Pseudomonas stutzeri* AK61, by cyanidase. *Microbiology* 1998 Jun;144 (Pt 6):1677-82.
5. Reimmann C, Beyeler M, Lafiti A, Winteler H, Foglino M, Lazdunski A, Haas D. The global activator GacA of *Pseudomonas aeruginosa* PAO positively controls the production of the autoinducer N-butyryl-homoserine lactone and the formation of the virulence factors pyocyanin, cyanide, and lipase. *Mol Microbiol* 1997 Apr;24(2):309-19.
6. Meganathan R, Castric PA. The effect of inorganic phosphate on cyanogenesis by *Pseudomonas aeruginosa*. *Arch. Microbiol* 1977 Jul 26;114(1):51-4.
7. Castric PA. Hydrogen cyanide production by *Pseudomonas aeruginosa* at reduced oxygen levels. *Can J Microbiol* 1983 Oct;29(10):1344-9.
8. Askeland RA, Morrison SM. Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl Environ Microbiol* 1983 Jun;45(6):1802-7.
9. Dhillon JK, Shivaraman. Biodegradation of cyanide compounds by a *Pseudomonas* species (S1). *Can J Microbiol* 1999 Mar;45(3):201-8.
10. Formation of HCN by human phagocytosing neutrophils-chlorination of *staphylococcus epidermidis* as a source of HCN. *Int. J. Biochem* 1985;17(3):373-9.

## 2. Stabilité de l'HbCO in vivo et in vitro dans les mêmes conditions (+4°C et -20°C) H. Eysseric

Une revue de la bibliographie est présentée :

*In vivo*, la liaison HbCO est réversible mais très stable. Le CO ne se déplace pas spontanément de l'hémoglobine sauf sous l'action de l'oxygène, à *fortiori* hyperbare. Le CO a moins d'affinité avec la myoglobine qu'avec l'hémoglobine, néanmoins après fixation, la vitesse de dissociation est plus faible. La stabilité de l'HbCO sous l'effet thermique des incendies fait encore l'objet de débats : risque de diminution pour certains, risque de surestimation pour d'autres... Une cause de formation artéfactuelle *post mortem* de CO est décrite pour les corps immergés en cas de noyade.

*In vitro*, une étude sur 64 autopsies (Kunzman, JAT, 2000) permet **de conclure que l'HbCO est stable dans le sang** avec ou sans conservateur, à 4°C pendant 2 ans quelque soit le niveau d'HbCO mesuré lors de la 1<sup>ère</sup> analyse. La seule réserve concerne les prélèvements ayant une concentration en Hb totale < 4g/dl. Une étude sur 11 cas réels réalisée par G. Pépin confirme **la bonne stabilité de HbCO dans le sang de cadavre conservé plusieurs mois à 4°C sans conservateur.**

G. Pépin indique :

- l'intérêt d'un prélèvement de muscle dans un incendie (le muscle psoas étant le mieux protégé/incendie) pour réaliser parallèlement le dosage de cyanure et le dosage de CO et obtenir ainsi des éléments de discussion dans le diagnostic du décès, et permettant de déterminer si la personne décédée était vivante ou non avant la carbonisation,
- la formation d'HbCO dans les décès par arme à feu où les explosifs libèrent du CO capable de se fixer directement sur le sang cardiaque (avec ou sans plaie ouverte), 4 cas sont présentés avec des taux d'HbCO dans le sang cardiaque mesurés de 18 à 38 %,

- la formation d'HbCO dans les accidents de la circulation avec déclenchement de la cartouche explosive, de l'Air Bag ou des pré-tensionneurs des ceintures de sécurité qui peuvent également libérer du CO à une vitesse de libération variable selon que l'Air Bag est gonflé ou explose et selon la violence du choc.

**Participation des membres du groupe de travail :**

**Pour disposer d'un plus grand nombre de cas, il est demandé à tous les membres du groupe de travail de réaliser des dosages de CO (HbCO) dans sang cardiaque et dans le sang périphérique dans des cas accidents de la circulation mortels avec déclenchement d'Air Bag et lors de plaies mortelles par arme à feu. (Les résultats sont à envoyer à G. Pépin et seront présentés lors de la prochaine réunion du groupe de travail Toxicologie judiciaire).**

REFERENCES:

1. GW. Kunsman, CL. Presses, P. Rodriguez. Carbon monoxide stability in stored post-mortem blood samples. JAT, 2000 Oct, 24, 572-578
2. T. Kojima, I. Okamoto, M. Yashiki et coll. Production of monoxide in cadavers. FSI, 1986, 32 : 67-77
3. Yoshida, FSI, 1991
4. Seto, FSI, 2001
5. Kojima, FSI, 1983
6. Winek, FSI, 1990
7. Levine, Toxicology, 1996
8. Lee, FSI 2002 et 2003

**3. En médecine légale : mise en évidence de l'alcoolisme chronique sur le cadavre par l'analyse du sang et des phanères (marqueurs de l'alcoolisme chronique)**

**- Transferrine désialylée (ou SDT) :**

V. Dumestre rappelle l'intérêt du dosage de ce marqueur dans l'alcoolisme chronique.

Dosage possible par immunochimie :

une trousse SDT est proposée par MédiChem (en microplaque)

ou une trousse CD-TECT

A Lille, ce marqueur est couramment demandé par le service d'alcoologie et dans le cadre du bilan médical pour restitution du permis de conduire.

**- Ethyl-glucuronide :**

Autre marqueur intéressant dans un délai de 48 heures suivant la prise d'alcool dans le sang et dans une fenêtre de détection beaucoup plus longue dans les cheveux.

(Cf. Références bibliographiques scannées en Annexes) ainsi que :

REFERENCES:

9. V. Dumestre-Toulet. La transferrine désialylée (SDT): un nouveau marqueur de l'alcoolisme chronique, applications cliniques et médico-légales. Poster.
10. Sillanaukee P, Ponnio M, Seppa K. Sialic acid : new potential marker of alcohol abuse. Alcohol Clin Exp Res; 1999 Jun, 26(6): 1039-43
11. Simonnet C, Dumestre-Toulet V. Kintz P, Gromb S. review of factors susceptible of influencing post-mortem carbohydrate-deficient transferrin. Forensic Sci Int, 1999 Nov 22, 106(1): 7-17

12. Zanireto G, Di Capua G, Mian P et al. Alcohol and driving : the role of CDT in assessing alcohol abuse. Medico-legal implications. Sinergie 1995; 4(3) : 38-44

#### **4. Stabilité de l'amisulpride dans les prélèvements d'autopsie (sang cardiaque - sang périphérique) :**

G. Pépin présente 1 cas médico-légal réel (cf 2 tableaux distribués en séance) soulevant un problème d'interprétation d'une concentration anormalement élevée d'amisulpride. Ce cas repose le problème de sa stabilité *in vitro* (phénomène de relargage avec le temps, déjà décrit lors de l'étude multi-centrique de la commission par P. Kintz) et de son rapport entre sang périphérique et sang cardiaque (les concentrations mesurées dans le sang périphérique avec NaF s'avèrent souvent plus élevées (de 2 à 10 fois) que dans le sang cardiaque sans conservateur). A noter que ces dosages ont été réalisés par CLHP/DAD, que des contrôles ont été réalisés par 2 autres laboratoires (P. Kintz et JP. Goullé) et que des contrôles ont aussi été faits par CLHP/SM.

#### **Participation des membres du groupe de travail :**

Là aussi, **il est important de vérifier ces observations à plus grande échelle : chaque laboratoire est invité à réaliser des dosages de contrôles de ses propres cas et à envoyer simultanément des échantillons pour contrôles à d'autres laboratoires.**

#### **5. Information concernant l'accreditation COFRAC dans les laboratoires de toxicologie médico-légale**

En l'absence de Anne Gruson, G. Pépin fait part de son expérience dans ce domaine : prévoir un délai minimal de 2 mois pour obtenir la documentation nécessaire à la déclaration de candidature à l'accreditation.

Une proposition de programme de déroulement (sur 1 journée) de l'audit de surveillance et d'extension est distribuée (faxée par Alain Gruson).

#### **6. Information concernant la bibliothèque PMW.**

Le volume 5, 2<sup>nd</sup>e édition de la version papier est en attente de parution.

La 3<sup>ème</sup> édition de la version informatique est actuellement commercialisée.

La 4<sup>ème</sup> édition de la version informatique est en attente de parution.

#### **7. Questions diverses**

a) Certaines Cours d'Appel sont ouvertes à la discussion avec les experts pour étudier le problème du coût de conservation des scellés (ex : CA de Rouen et JP Goullé). Il est légal d'envisager un tarif de conservation, estimé par certains d'entre nous, après calcul du coût réel, incluant les frais de personnel pour contrôle de type « COFRAC » ou BPL des frigos et congélateurs, de l'ordre de 5 à 6 euros par mois, à condition que l'on puisse en fournir la traçabilité et qu'une réquisition pour conservation soit émise.

Sur décision du Directeur Général du CHU de Poitiers, il a été fixé des tarifs de conservation :

- le 1<sup>er</sup> mois de 0,3 € / scellé / jour

- au-delà du 1<sup>er</sup> mois : 0,15 € / scellé / jour

Tous les TGI de la Cour d'Appel de Poitiers en ont été informés.

b) Sujet non abordé faute de temps (Question du Professeur Ricordel) :

Devenir du GHB, gammabutyrolactone et kétamine en milieu liquide dans un flacon sans protection particulière à 4°C ou à température ambiante en fonction du temps (1 an et plus).

Peut-on perdre 90% de la partie initiale... ? (GHB  $\longleftrightarrow$  butyrolactone)

**Remarque : il est rappelé que les membres du groupe de travail Toxicologie judiciaire doivent participer aux études communes afin de rester membres (actifs) du groupe.**

## **Le groupe de travail Toxicologie judiciaire :**

**Responsable :** G. Pépin

**Membres :** C. Charlier, M. Deveaux, V. Dumestre-Toulet, H. Eysseric, J.M. Gaulier, M.H. Ghysel, J.P. Goullé, P. Kintz, M. Lhermitte, I. Ricordel, A. Turcant, Alain Gruson (ajouté à la liste des membres le 27/01/05, mais absent excusé)

**Suppléants :** C. Coquel, G. Lâchatre, C. Lacroix, A.L. Pelissier-Alicot

<i><b>ANNEXES</b></i>
-----------------------

Méthodes de détermination de l'éthylglucuronide dans le sang, l'urine et les cheveux

1. Aderjan R.E., Besserer K., Sachs H., Schmitt G.G., Skopp G.A., Ethylglucuronide – A non volatile metabolite in human hair. Proceedings of the 1994 joint TIAFT/SOFT international meeting. 31 oct-4 nov 1994, Tampa, Floride
2. Schmitt G., Aderjan R., Keller T., Wu Moutian, EthylGlucuronide : an unusual ethanol metabolite in humans. Synthesis, analytical data, and determination in serum and urine. JAT, 1995 ; 19 : 91-4
3. Schmitt G., Droenner P., Skopp G., Aderjan R., Ethylglucuronide concentration in serum of human volunteers, teetotalers, and suspected drinking drivers. J. Forensic Sci. 1997 ; 42 : 1099-102
4. Nishikawa M., Tsuchihashi H., Miki A., Schmitt G., Zimmer H., Keller Th., Aderjan R., Determination of ethylglucuronide, a minor metabolite of ethanol, in human serum by liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. J. Chromatogr. B. 1999 ; 726 : 105-10
5. Wurst F.M., Kempter C., Metzger J., Seidl S., Alt A., Ethylglucuronide : a marker of recent alcohol consumption with clinical and forensic implications. Alcohol, 2000 ; 20 : 111-6
6. Weinmann W., Schaefer P., Thierauf A., Schreiber A., Wurst F.M., Confirmatory analysis of ethylglucuronide in urine by liquid-chromatography/electrospray ionization/tandem mass spectrometry according to forensic guidelines. J. Am. Soc. Mass Spectrom., 2004 ; 15 ; 188-93