UNIVERSITÉ DE VERSAILLES ST-QUENTIN-EN-YVELINES

université PARIS-SACLAY

Hôpitaux Universitaires Paris Ile-de-France Ouest

Site RAYMOND POINCARÉ

Spécificités de l'analyse capillaire avant l'âge de 2 ans

Pr. Jean-Claude Alvarez

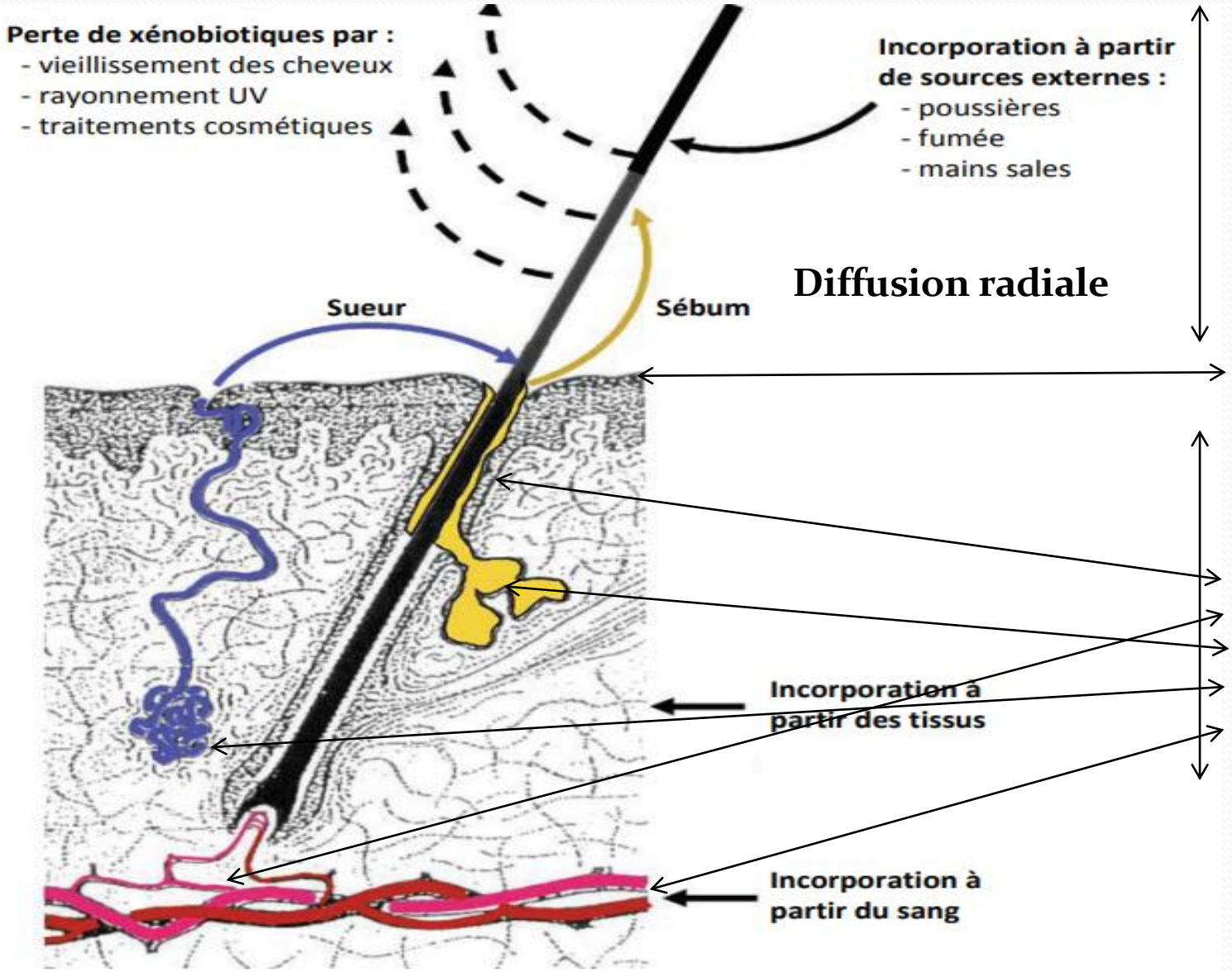
Expert Cour d'Appel de Versailles,
Agréé Cour de Cassation
Membre de l'Académie Nationale de Médicine
Membre de l'Académie Nationale de Pharmacie

Service de Pharmacologie - Toxicologie,
Plateforme Spectrométrie de masse, Inserm U1173
UFR de Médecine Simone Veil
Université Paris-Saclay (Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines)
Centre Hospitalier Universitaire de Garches, France

Introduction : intérêt analyse capillaire

- Chez l'adulte
  - Complément précieux des analyses sanguines et urinaires :
    - Permet identifier les composés auxquels patient est exposé
    - Distinction entre exposition unique, ponctuelle et/ou exposition répétée
    - Évolution des consommations si analyse segmentaire
- Chez le jeune enfant
  - Comparable d'un point de vue analytique
  - Question posée : y a t-il exposition unique ou répétée à un xénobiotique retrouvée dans sang et/ou urine. Mais :
    - Caractéristiques du cheveu du nouveau-né identique ? (contamination passive ?)
    - Quid de l'exposition *in utero*

Rappel : Structure du cheveux, intégration et perte des xénobiotiques

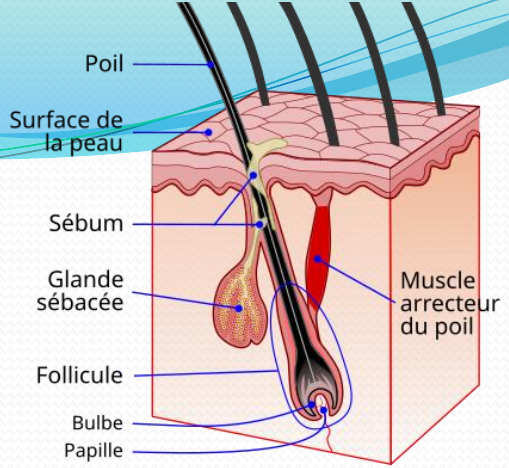


1. Tige pilaire :
- Visible (extérieur)
- Mort biologiquement : dépourvue de cellulles (sang et innervation)
- Kératinisée

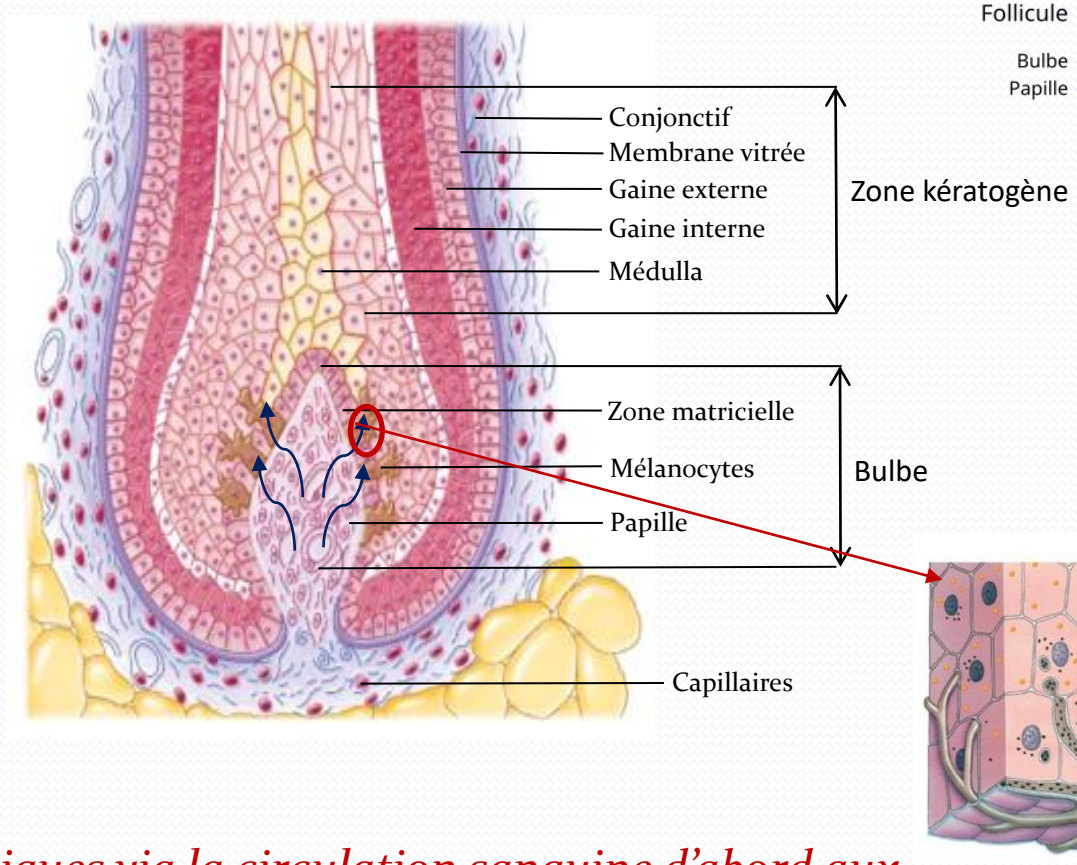
Scalp

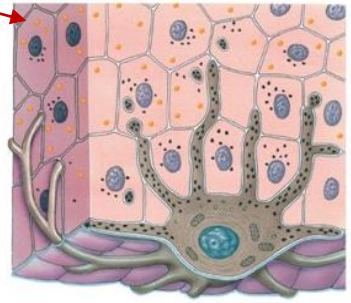
2. Racine :
- Non visible (dans derme)
- Follicule
  - Bulbe
  - Glandes sébacées
  - Capillaires et terminaisons nerveuses
- Glandes sudoripares

Physiologie du cheveu adulte : 1. racine



- Le bulbe
  - La papille dermique
    - Tissu conjonctif
    - Fibroblastes
    - Capillaires
    - Terminaisons nerveuses
  - La zone matricielle
    - Mélanocytes
    - Cellules matricielles → kératinocytes
- La zone kératogène

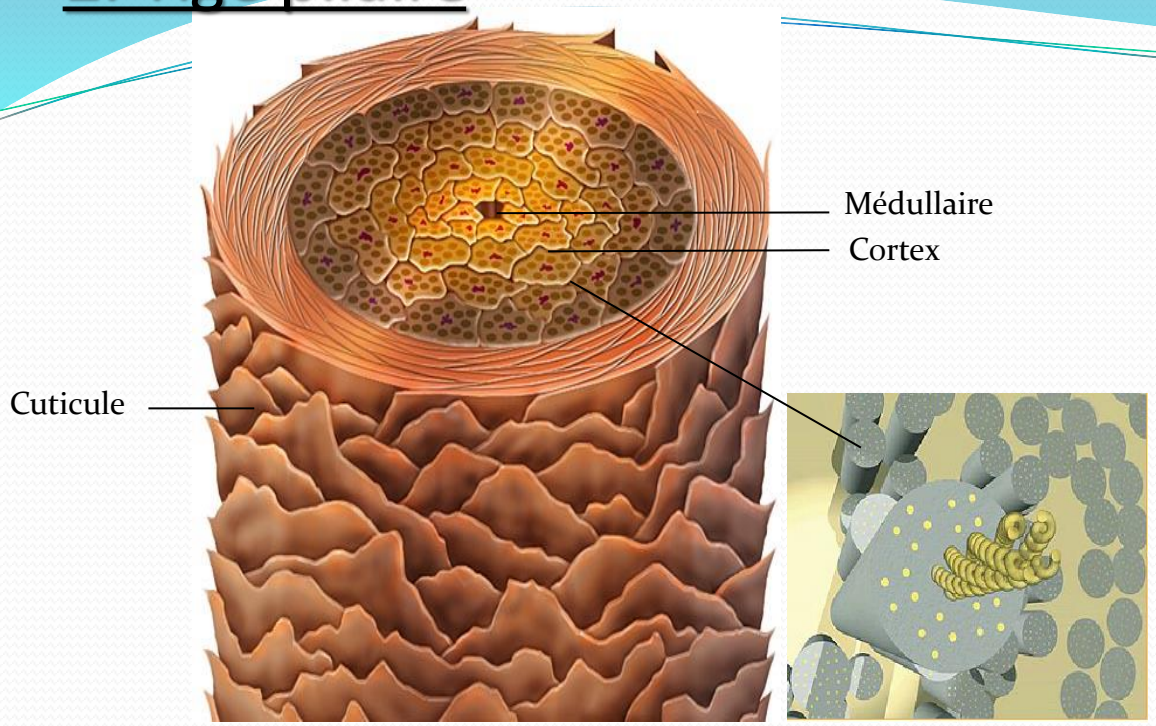




Incorporation des xénobiotiques via la circulation sanguine d'abord aux mélanocytes puis aux kératinocytes par dendrites mélanocytaires

Schneider MR et al. Current Biol. 2009;19:R132-R142
Paus R & Cotsarelis G. N England J Med. 1999;12-491-7

2. Tige pilaire



1. Cuticule

- Fine, incolore, petites écailles qui se chevauchent, protège cortex

2. Cortex

- Responsable vigueur élasticité résistance (eau, UV..)
- Fibrilles de kératine (90-95%)
- Grains de mélanine

3. Médullaire (médulla)

- Kératine molle
- Uniquement sur cheveux assez larges

Mélanine

- Pigment de protection produit par mélanosomes dans mélanocytes (avant transfert vers kératinocytes)
  - Eumélanine → cheveux bruns-noirs (à partir de tyrosine)
  - Phéomélanine → cheveux blonds-roux (à partir de tyrosine et cystéine)

Binding des xénobiotiques

- Au niveau mélanine +++ et aussi probablement d'autres protéines comme kératine
- Passage sang → mélanocytes puis transfert aux kératinocytes

Dubus P & Vergier B. EMC-Dermatologie. 50-010-A-10, 2000
Kronstrand R et al. J Anal Toxicol. 2001;25:594-601
Kronstrand R et al. Clin Chem. 1999;45-1485-1494

Fixation capillaire dépendante de la mélanine

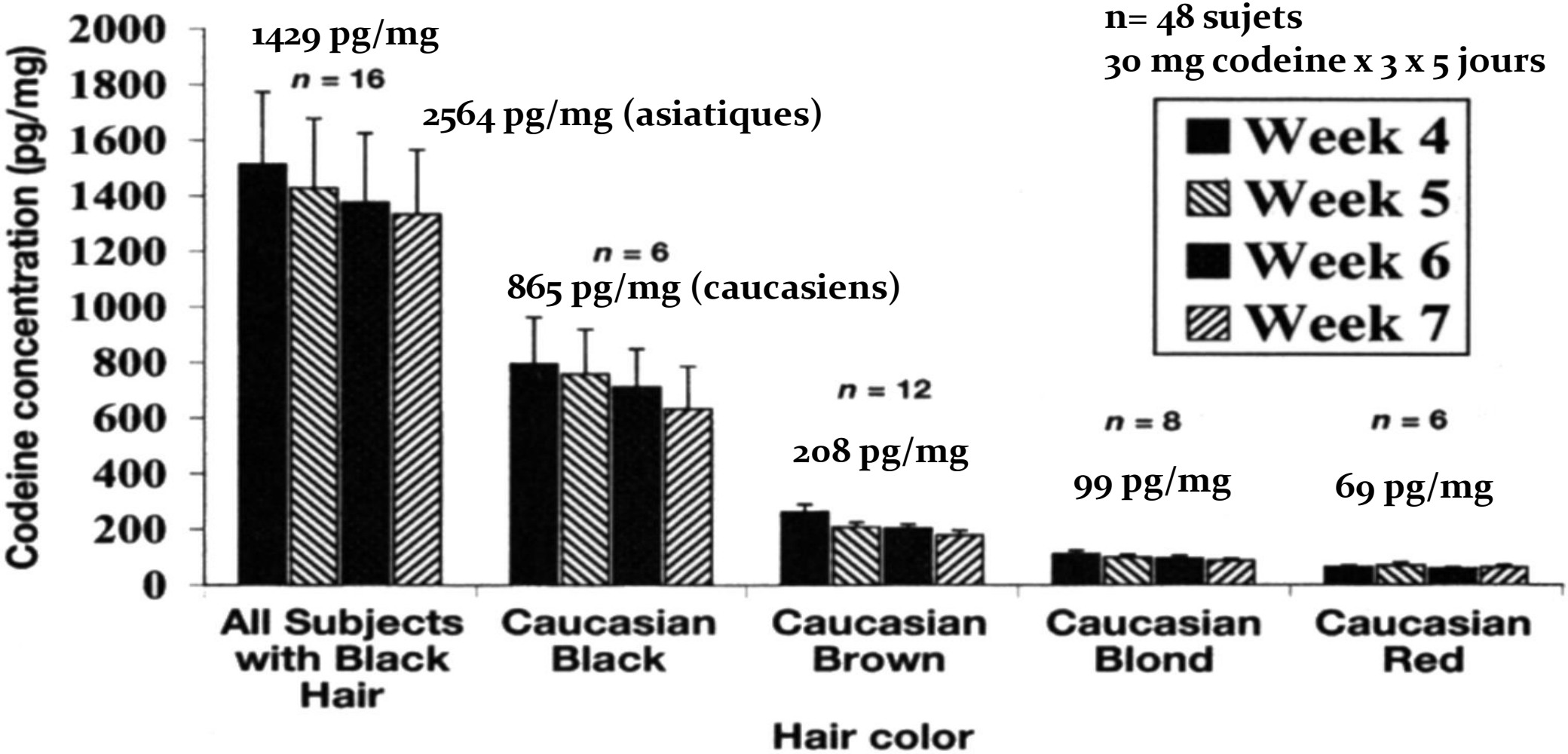


Figure 1. Mean codeine concentrations in the hair of all subjects with black hair and Caucasians with black, brown, blond, or red hair during weeks 4, 5, 6, and 7 after codeine administration. Error bars represent SE.

Rollins DE et al. J Anal Toxicol. 2003;27(8):545-51.

Fixation capillaire dépendante de la mélanine

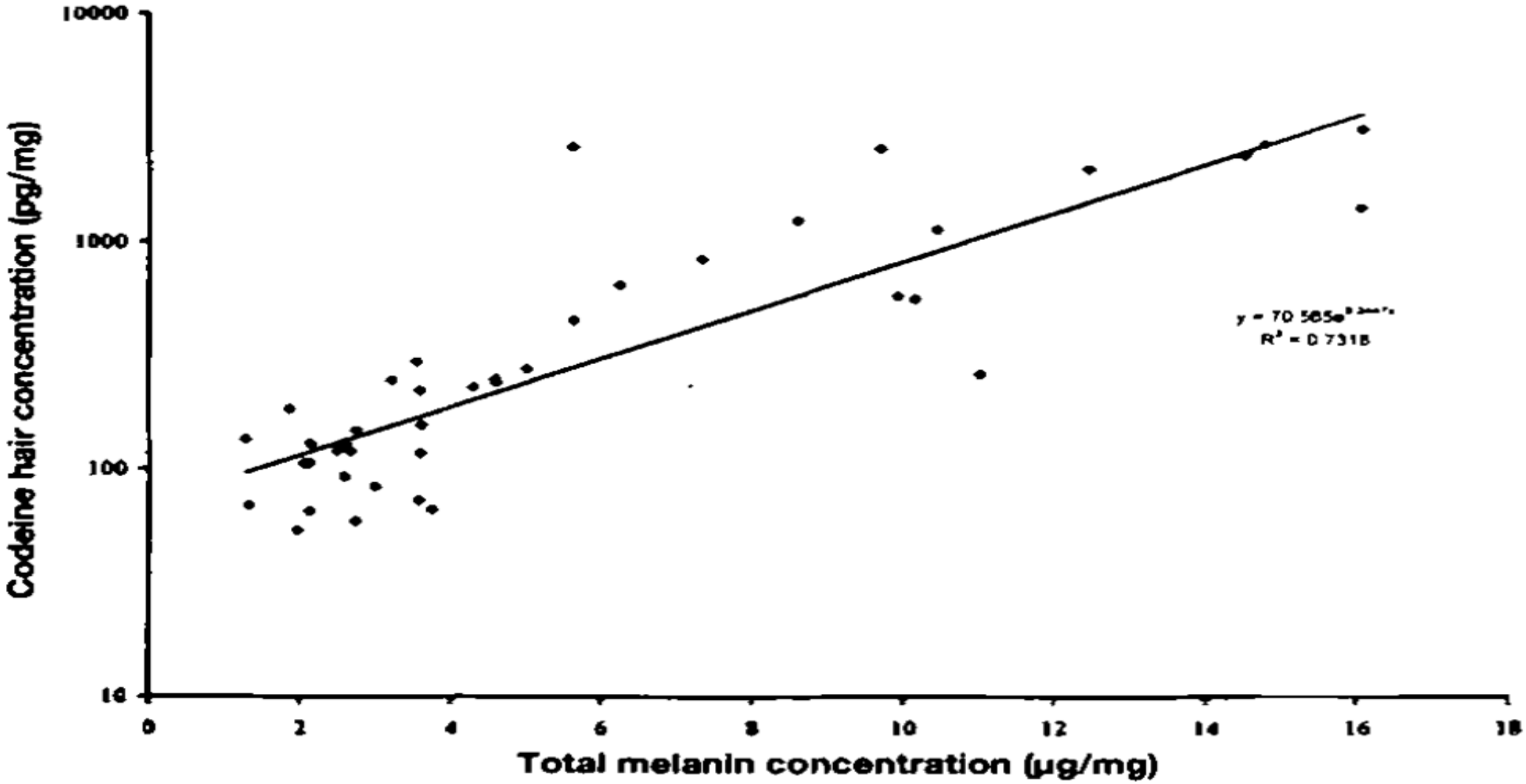


Figure 3. Correlation between codeine concentration in the hair of all subjects during week 5 after codeine administration and the total melanin concentration.

Rollins DE et al. J Anal Toxicol. 2003;27(8):545-51.

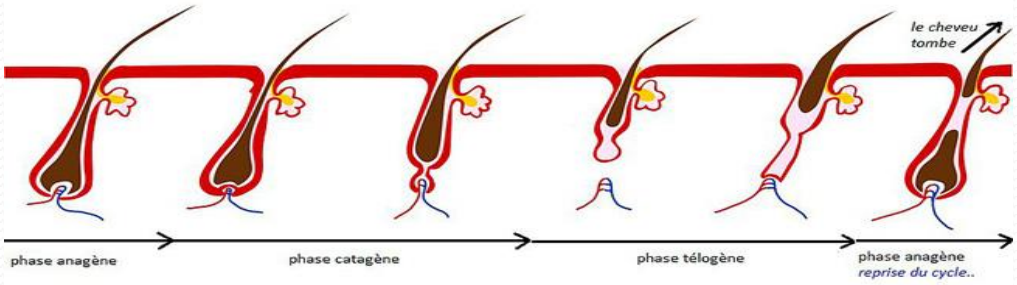
Rappels : physiologie du cheveu adulte

- Cycles de croissance

- Phase anagène ou de croissance active (85% des cheveux)
  - Phase de production du cheveu par le bulbe
  - 4 à 8 ans en fonction de la région du cuir chevelu
  - Vitesse de pousse : 0,7 à 1,4 cm/mois

- Phase catagène ou de transition (< 5% des cheveux)
  - Arrêt de la croissance des cellules matricielles
  - Rétraction follicule pileux
  - 2 à 3 semaines

- Phase télogène ou de repos (10-15% des cheveux)
  - Cheveux ne pousse plus mais reste dans follicule
  - Papille dermique en phase de repos
  - S'achève par la chute du cheveu sous la poussée d'un nouveau follicule
  - 2 à 7 mois



Paus R & Cotsarelis G. N England J Med. 1999;12-491-7

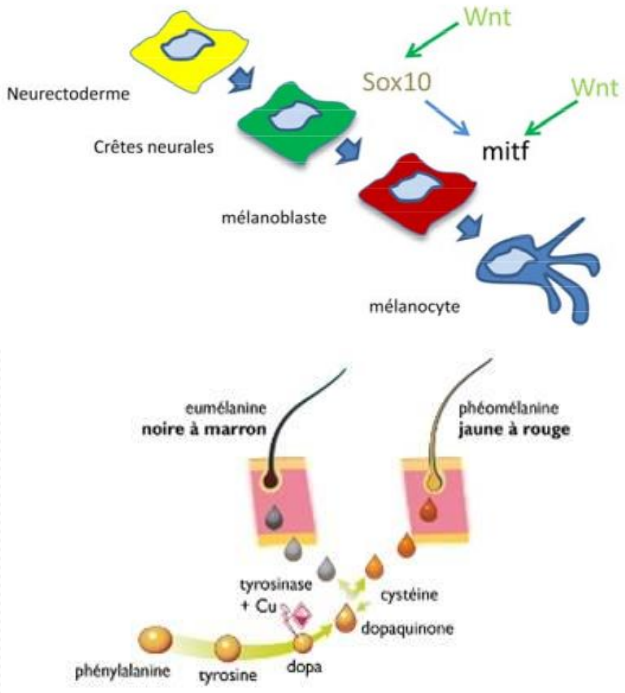
Embryogénèse du cheveu : 3 phases

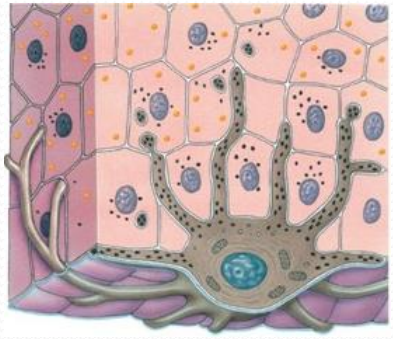
- Induction
  - 8 à 10 semaines de gestation (SG)
  - Formation de la placode : bourgeonnement des kératinocytes
  - Formation du bulbe : uniformément répartis sur le cuir chevelu, nombre définitif
- Organogenèse
  - 10 à 16 SG
  - Formation de la papille
- Cytodifférenciation
  - Différenciation de la matrice
    - Kératinisation
    - Individualisation de la racine et de la tige
    - Formation du cortex, de la cuticule et de la médulla
    - Saillie du cheveu (16-18 SG)
    - Formation des glandes sudorales (16-20 SG) et sébacées (28 SG)

Furdon SA & Clark DA. Adv Neonatal Care. 2003;3:286-96
Schmidt-Ulrichl R & Paus R. BioEssays. 2005;27;241-61
Liu S. et al. Int J Mol Sci. 2013;14:10869-95

Embryogénèse du cheveu : Mélanocytes

- Cellules de la crête neurale
- Migration jusqu'à l'épiderme (8 - 14 SG)
- = Mélanoblastes: colonisation de la base du follicule
- Transformation en mélanocytes matures
- Apparition des mélanosomes (24 SG)
  - Eumélanine & Phéomélanine → coloration cheveux
- Apparition des dendrites mélanocytaires (≈ 28 SG)
  - Formation des unités de pigmentation
- Transfert aux kératinocytes





En pratique, l'incorporation des xénobiotiques ne peut avoir lieu avant 28 SG; incorporation lors dernier trimestre

Montaudié H. et coll. EMC- Dermatologie 2013;8:1-10
Mantoux F. et coll. EMC- Dermatologie 98-015-A-10, 2003

Développement du cheveu : 4 cycles de pousse

- le lanugo
  - Poils très fins, poreux, apigmentés, dépourvus de médulla, visibles chez le grand prématuré
  - Pousse synchronisée depuis la région frontale jusqu'à la région pariétale
  - 1ère phase anagène: 16 à 20 SG
  - 1ères phases catagènes / télogènes : 24 -28 SG
  - → *A priori* pas d'incorporation de xénobiotiques

- Deuxième cycle
  - Cheveux fins, peu pigmentés, plus épais que le lanugo
  - Vitesse de pousse lente et synchronisée
  - Quantité faible
  - Visibles à la naissance
  - → Incorporation in utéro possible

Gareri J & Koren G. Forensic Sci Int. 2010;196:27-31
Kintz P. Forensic Sci Int 2015;249:314-7

Développement du cheveu : 4 cycles de pousse (2)

- Duvet
  - 3ème au 7ème mois environ
  - Augmentation du nombre de cheveux possédant une médulla
  - Porosité > adulte
  - Quantité faible, longueur variable
  - Vitesse de pousse asynchrone
  - Chute de cheveux fréquente entre 6 et 12 mois
- Cheveu mature
  - A partir de ± 2 ans
  - Plus foncés, plus résistants,
  - Acquisition définitive de la médulla
  - Stabilisation de la vitesse de pousse
  - Persistance du duvet (6 à 25%)
- ….Cheveu adulte
  - Puberté
  - Régulation hormonale (androgènes)

Gareri J & Koren G. Forensic Sci Int. 2010;196:27-31
Kintz P. Forensic Sci Int 2015;249:314-7

Incorporation xénobiotiques chez très jeunes enfants…

…Voies d'incorporation multiples :

- Sanguine comme chez adulte
- In utéro
- Par allaitement
- mais aussi depuis sébum/sueur de par porosité +++ :
    - Excrétion dans sueur (sébum) très importante, et très rapide : moins d'une heure après administration[1]
    - Contamination tige pilaire
    - Contamination externe par les mains

- et diffusion radiale & longitudinale le long de la mèche

[1] Wang X. and Drummer O.H. Forensic Sci Int, 2015 ; 257 : 458-72

Études chez l'enfant vivant

- Inclusion 18 enfants, 20 échantillons
- Age de 1 jour à 15 ans
- Suspicion intoxication, avec traitement chronique ou hospitalisés avec traitement unique bien documenté
- Mèche cheveux prélevé entre 1 et 45 jours, + sang et/ou urine

Hair analysis does not allow to discriminate between acute and chronic administrations of a drug in young children

Jean Claude Alvarez, Laetitia Lasne, Isabelle Etting, Gérard Chéron, Véronique Abadie, Nicolas Fabresse & Islam Amine Larabi

International Journal of Legal Medicine

ISSN 0937-9827
Volume 132
Number 1

Int J Legal Med (2018) 132:165-172
DOI 10.1007/s00414-017-1720-5

Springer

Résultats chez l'enfant vivant

Chez les 10 plus jeunes enfants, âgés de 1 jour à 29 mois :

- Composés administrés à l'hôpital (administration unique : lidocaine, ropivacaine, midazolam, ketamine), sous traitement (administration chronique : diazepam, levetiracetam) ou responsable de l'intoxication (morphine, méthadone, buprénorphine, THC, MDMA)
  - retrouvés sur tous les segments analysés
  - indépendant du délai pour prélever (1 jour à 45 jours après administration)
  - concentrations similaires le long de la mèche, ou parfois ascendantes, parfois descendantes
  - concentrations parfois très élevées après intoxication (jamais atteintes chez adultes) surtout si prélèvements précoces

→ Analyse capillaire ne permet pas de distinguer une prise aigue unique d'une prise chronique (forte incorporation par sébum/sueur + diffusion)

Résultats chez l'enfant vivant (2)

Chez les 8 plus âgés, âgés de 34 mois à 15 ans :

- Composés administrés à l'hôpital (lidocaine, diazépam, morphine), ou responsable de l'intoxication (THC, paracétamol, codéine, buprénorphine) :
  - jamais retrouvés sur aucun segment analysé si prélèvement <5 jours après l'administration
  - Par contre composés administrés chroniquement retrouvés tout le long du cheveu (méthylphénidate, THC)

→ Analyse capillaire peut permettre de distinguer une prise aigue d'une prise chronique

Alvarez JC., Lasne L., Etting I., Cheron G., Abadie V., Fabresse N., Larabi IA. Hair analysis do not allow to discriminate between acute and chronic administration of a drug in young children. International Journal of Legal Medicine, 2018, 132(1): 165-172

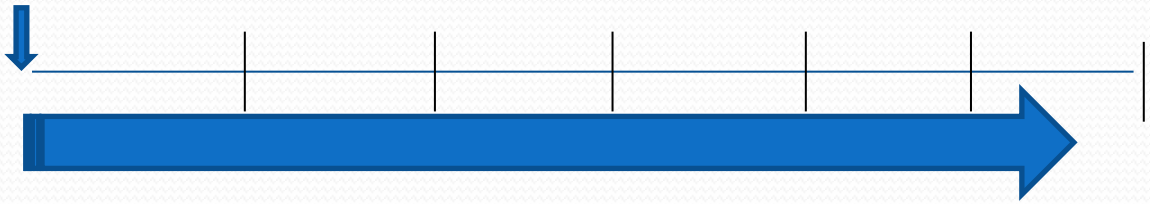
Résultats chez l'enfant vivant : exemples enfants très jeunes

	Age	Analyse	Délai (jrs)	Résultats (molécule – pg/mg) A	B	C	D	
1	22 mois ½	3x1.5cm	13	Lidocaïne 5000 Kétamine 48 Diazépam 13	Lidocaïne 3400 Kétamine 28 Diazépam 15	Lidocaïne 2400 Kétamine 24 Diazépam 10		Malaise + convulsion, Aigue : lidocaine, kétamine, diazepam Pvt J13 : Conc. Décroissantes & stables
2	17 mois ½	Vrac	1	Lidocaïne 58 Méthadone 35400 EDDP 2450 Diazépam 70				Malaise + convulsion suite à intox méthadone Aigue : lidocaine, diazepam (+ méthadone) Pvt J1 : Conc. Énormes de méthadone
	18 mois	2x2cm	8	Lidocaïne 200 Méthadone 70318 EDDP 4420 Diazépam 67	Lidocaïne 307 Méthadone 72265 EDDP 5163 Diazépam 130			Pvt à J8 Conc. Encore + fortes (longue demi-vie ?) Diffusion 2 segments
3	11 mois ½	2x2cm	4	MDMA 71 170 MDA 3550 Lidocaïne 6250 Diazépam 160	MDMA 75520 MDA 4400 Lidocaïne 5754 Diazépam 144			Malaise + convulsion suite à intox MDMA Aigue : lidocaine, diazepam (+ MDMA) Pvt J4 : Conc. Énormes et similaires de MDMA (et lidocaine), 2 segments J45 : Conc MDMA & lidocaine + faibles, croissantes Segment A contaminé alors que faits sur B
	13 mois	4x1cm	45	MDMA 412 MDA 2 Lidocaïne 148 Diazépam 8	MDMA 489 MDA 6 Lidocaïne 141 Diazépam12	MDMA 1224 MDA 45 Lidocaïne 300 Diazépam 23	MDMA 1242 MDA 58 Lidocaïne 333 Diazépam 27	

Alvarez JC., Lasne L., Etting I., Cheron G., Abadie V., Fabresse N., Larabi IA. Hair analysis do not allow to discriminate between acute and chronic administration of a drug in young children. International Journal of Legal Medicine, 2018, 132(1): 165-172

Cheveux chez jeune enfant après intoxication

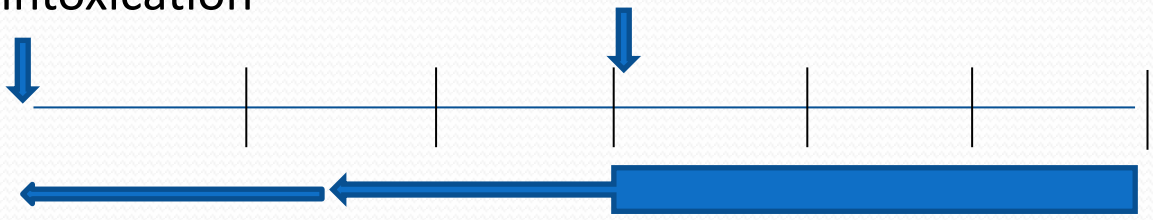
Prélèvement Le j
de l'intoxication



Contamination +++ des cheveux par sébum et sueur (diffusion radiale)
Concentrations élevées et du même ordre tout le long du cheveu (diffusion longitudinale)

Prélèvement
plusieurs semaines
après l'intoxication

Période de l'intoxication



Concentrations moins élevées et décroissantes de la zone de la période des faits vers le scalp (diffusion longitudinale inverse)

Fille 4 ans : mèches 16-20 cm

Délai entre faits et prélèvements > 11 mois

Période des faits

Segment cm (g)	2 (21,4)	2 (21,9)	2 (20,1)	2 (21,8)	2 (21,3)	2 (17,8)	4 (17,5)
carbamazépine	10	14	18	26	22	29	30
tiapride	2	2	5	10	11	22	22

Petit frère 2 ans : mèches 5-6 cm

Délai entre faits et prélèvements > 11 mois

Période des faits

Segment cm (g)	2,5 (20,6)	2,5 (20,9)	-	--	---	----
carbamazépine	3	11			??	??
tiapride	2	3			??	??

Résultats chez l'enfant vivant : exemples enfant plus âgés

	Age	Analyse	Délai (jrs)	Résultats (molécule – pg/mg) A	B	C	D
1	34 mois	3x2cm	1	Cocaïne 13	Cocaïne 13	Cocaïne 22	
2	15 ans 4 mois	3x2cm	1	THC 110 Cannabinol 22 Cannabidiol 105	THC 342 Cannabinol 72 Cannabidiol 378	THC 717 Cannabinol 166 Cannabidiol 736	

Malaise + convulsion suite à intox buprénorphine - Aigue : lidocaine, diazepam (+ buprénorphine)
Pvt J1 : Absence buprénorphine et médicaments administrés
Présence cocaïne faibles conc. (père consommateur)

Intox volontaire paracétamol + codéine – Chronique : consommation de cannabis
Pvt J1 : Absence paracétamol et codéine
Présence THC, CBD et CBN en relation avec consommation chronique

Alvarez JC., Lasne L., Etting I., Cheron G., Abadie V., Fabresse N., Larabi IA. Hair analysis do not allow to discriminate between acute and chronic administration of a drug in young children. International Journal of Legal Medicine, 2018, 132(1): 165-172

Chez l'enfant post-mortem : difficultés d'interprétation

Enfant 3 mois DCD MIN : sang + urine + cheveux

sexe	Age	longeur cheveux (cm)	poids analysés (mg)	molécules retrouvées	concentration (pg/mg)	sang	
F	3 mois	5	11,9	cocaïne	420		
				BZE	28		
				norcocaïne	4		
				morphine	31		
				trimébutine	4017	trimébutine	< 5
				DM-trimébutine	1470	DM-trimébutine	< 5
				lévamisole	22	donné par la mère	
				paracétamol	12000		
				lidocaïne	36		
				ropivacaïne	8		
				bupivacaine	14		
				bisoprolol	31	traitement du grand-père	
				vérapamil	2	traitement du grand-père	

- Association contamination externe probable, environnementale : COC mais ± norCOC
- Passage in-utéro, péridurale mère : lidocaine, ropivacaine, bupivacaine, morphine ?
- Traitement grand-père : contact ?
- Passage / bulbe : paracétamol
- Contamination sébum/sueur : trimébutine + DMT

Conclusion

- Incorporation dans cheveux fœtus après 3ème trimestre grossesse (in utero)
- Persistance plusieurs mois après naissance de ces cheveux

- Structure cheveux avec porosité +++
  - Intégration externe +++ / sueur (sébum)
- Diffusion plus importante que chez l'adulte
  - Radiale +++ (cuticule non mature)
  - Longitudinale (moins de mélanine ?)

- Ne permet pas de distinguer prise unique ou chronique avant 2 (3) ans
- Permet diagnostic intoxication a posteriori

- Études contrôlées nécessaires chez enfants de différents âges

Merci de votre attention!