

Sommaire

- 1 Introduction
- 2 Historique
- 3 Structure générale
- 4 Propriétés physicochimiques des benzodiazépines
- 5 Relation structure-activité des benzodiazépines
- 6 Pharmacocinétique des benzodiazépines
 - 6.1 Absorption
 - 6.1.1 Voie orale
 - 6.1.2 Voie intraveineuse
 - 6.1.3 Voie rectale
 - 6.2 Distribution
 - 6.3 Métabolisme
 - 6.4 Elimination
- 7 Mode d'action des benzodiazépines
 - 7.1 Pharmacologie de l'anxiété
 - 7.2 Les benzodiazépines endogènes
 - 7.3 Le récepteur GABA
 - 7.4 Le fonctionnement du R GABA
- 8 Propriétés pharmacologiques des benzodiazépines
 - 8.1 Propriétés Centrales
 - 8.1.1 a - Anxiolytique:
 - 8.1.2 b - Sédatifs et hypnotiques:
 - 8.1.3 c - Antiépileptiques:
 - 8.1.4 d - Myorelaxants:
 - 8.2 Propriétés périphériques
- 9 Indications des benzodiazépines
 - 9.1 PSYCHIATRIE
 - 9.2 NEUROLOGIE
 - 9.3 ANESTHÉSIOLOGIE
 - 9.3.1 AUTRES

- 10 Effets indésirables des benzodiazépines
 - 10.1 Somnolence et sédation
 - 10.2 Dépendance
 - 10.3 Syndrome de sevrage
 - 10.3.1 Symptômes
 - 10.4 Hypotonie musculaire
 - 10.5 Effets psychiques
 - 10.6 Effets indésirables divers
- 11 Contres indications des benzodiazépines
 - 11.1 Contres indications absolues
 - 11.2 Contres indications relatives
- 12 Interactions médicamenteuses
 - 12.1 Interactions médicamenteuses pharmacocinétiques
- 13 Toxicité des Benzodiazépines
 - 13.1 Toxicité aiguë
 - 13.2 Symptômes
- 14 Traitement des intoxications aux benzodiazépines
 - 14.1 Traitement symptomatique
 - 14.2 Traitement spécifique (antidote)
 - 14.3 Toxicité chronique

- 15 Toxicologie analytique
 - 15.1 Dépistage
 - 15.1.1 Principe
 - 15.1.2 Principales techniques
 - 15.1.2.1 La technique radio-immunologique (RIA): (radio immunoassay)
 - 15.1.2.2 La technique EMIT: (Enzyme Multiplied Immune assay Technic)
 - 15.1.2.3 La technique FPIA (Cobas integra): (Fluorescence Polarisation Immune-Assay)
 - 15.1.2.4 La méthode KIMS (Cobas integra)
 - 15.1.2.5 Les tests unitaires sur support solide (test stick)
 - 15.1.3 Identification
 - 15.1.4 Extraction
 - 15.1.5 Chromatographie sur couche mince CCM
 - 15.1.6 Spectre UV
 - 15.1.7 Avantages et limites:
 - 15.2 Quantification
 - 15.2.1 Diazocopulation :
 - 15.2.2 CPG: Chromatographie phase gazeuse: Détecteur:

Introduction

Les Benzodiazépines sont apparues en pharmacothérapie au début des années soixante déclenchant une véritable révolution dans le domaine des agents anxiolytiques car :

- Elles procurent un soulagement notable et rapide des symptômes d'anxiété.
- Elles peuvent induire le sommeil à des doses peu élevées tout en étant sécuritaires comparativement aux BRB et elles sont exemptes de leurs effets secondaires.

Les benzodiazépines ont toutefois rapidement perdu leur réputation de « drogues miracles » à la suite du développement de la tolérance, de la dépendance, de l'incidence d'effets secondaires sur certaines fonctions cognitives, de l'incidence d'abus, tant dans un contexte d'utilisation médicale contrôlée que dans un contexte non médical.

Malgré ces constats, les Benzodiazépines restent les médicaments psychotropes les plus prescrits dans les pays occidentaux, La banalisation de leur usage explique que ces molécules soient le plus souvent recherchées dans les

tentatives d'autolyse et que les laboratoires de toxicologie soient journallement confrontés à leur mise en évidence.(voir Bilan CAP d'Alger 2009).

Figure2 : Bilan du centre antipoison d'Alger (CAP 2009).

Les intoxications médicamenteuses (2009).

Produits	Nbr	%
benzodiazépines	577	14,8
antihistaminiques	301	7,8
hormones	291	7,5
butyrophénones	255	6,6
antiseptiques	236	6,1
atd tricycliques	235	6,1
ains	223	5,7
méd. cardio-vasculaires	172	4,5
antibiotiques	147	3,8
phénothiazines	146	3,8
anticonvulsivants nb	142	3,7
adrénergiques	120	3,1
méd. gastro-entérologiques	66	1,7
antiparasitaires	66	1,7
hypoglycémiants	64	1,6
analgésiques centraux	46	1,2
barbituriques	39	1
inconnus	38	1
vitamines	30	0,7
antiparkinsoniens	23	0,6
bases xantiques	17	0,4

Historique

Les premiers travaux sur le groupe des benzoheptodiazines commencent dans les années 1930, avec les recherches de l'équipe de Sternbach (pharmacologue américain d'origine autrichienne 1908-2005) à Cracovie. En quête de nouvelles molécules de colorant, ils explorent les dérivés de la quinazoline et synthétisent, en 1955, ce qui devait apparaître plus tard comme le premier représentant du groupe des BZD, le chlordiazépoxyde.

C'est pourtant grâce à l'intervention fortuite d'un de ses élèves, Reeder, que l'évaluation des effets pharmacologiques de cette nouvelle molécule devait être reprise en 1957, et couronnée par la mise en évidence, par Lowell Randall, de ses propriétés sédatives et anticonvulsivantes.

Les premières applications thérapeutiques du Librium® suivaient alors rapidement, à partir de 1958 (le Librium® vient d'être récemment retiré du commerce).

1960 : Commercialisation du chlordiazépoxyde (Librium1).

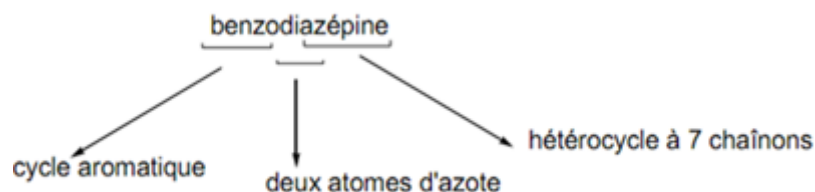
1963 : Commercialisation du valium.

1977 : Découvertes des R spécifiques des BZD proches de ceux du GABA.

Structure générale

Ils comportent donc trois parties importantes :

- Un cycle benzène (benzo): cycle A.
- Deux atomes d'azote (diaz) : cycle B.
- Et un cycle azoté à 7 atomes (azépine) : cycle C.



Structure d'une Benzodiazépine

Les composés utilisés en thérapeutique sont des benzodiazépines dont le cycle aromatique est sur le côté f. Le nom est donc benzo[f]diazépine. Enfin, afin de préciser la position des atomes d'azote, les sommets de la benzodiazépine sont numérotés à partir de l'azote près de l'aromatique soit :

- les 1,4-BZD, parmi lesquelles le chef de file historique, le chlordiazépoxyde, mais aussi la molécule de référence, le diazépam (Valium®) ;
- les 1,5-BZD, par exemple le clobazam (Urbanyl®) ;
- les 3,4-BZD, par exemple le tofisopam (Sériel®).

Selon les radicaux : R1 R2 R3 R4 R7 et R'2 : On a plusieurs molécules de benzodiazépines. Voir tableau.

[Toxicité des benzodiazépines - décembre 2014](#)

Figure 4 : Tableau des benzodiazépines en fonction de la substitution sur les différents radicaux.

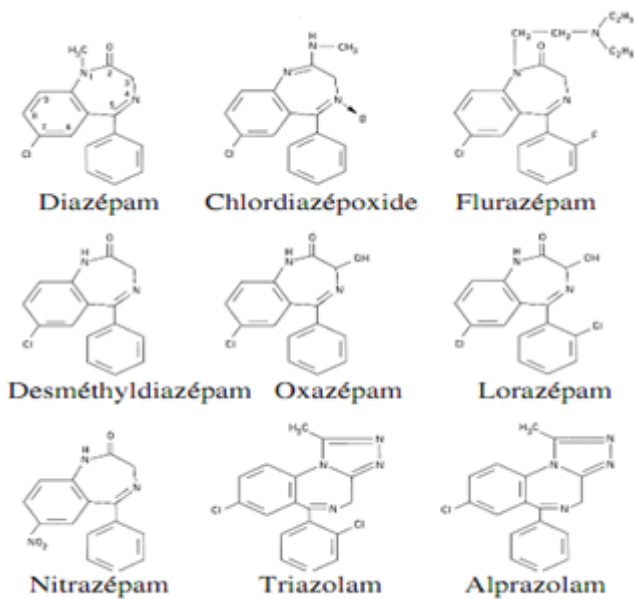


Figure5 : Structure de quelques benzodiazépines.

Propriétés physicochimiques des benzodiazépines

- Les benzodiazépines sont des bases faibles (non dissociées au pH physiologique).
- elles se dissolvent mal dans l'eau ; soluble dans l'éthanol, chloroforme, et dans l'éther.
- le *Chlordiazépoxyde* et le *Midazolam* sont des bases un peu plus fortes et forment des sels hydrosolubles (à des pH d'environ 4).
- Le coefficient de partition Octanol / Eau (à un pH physiologique) varie énormément. Il est d'environ 3 pour le *Clorazépate* et approximativement de 7000 pour le *Midazolam*.

Relation structure-activité des benzodiazépines

La nature et la position du substituant peuvent conditionner l'activité de la molécule.

Sur le cycle A :

Le radical en position 7(R7) : Plus le substituant est plus électronégatif, plus l'activité de la molécule est augmentée. Selon l'ordre croissant d'électronegativité on a : $N_2O=CF_3 > Br > Cl > CH_3 > F > H$.

- Si R7: Cl: activité anxiolytique. Ex : diazépam.
- Si R7 NO₂:

Activité hypnotique: Flunitrazépam.

Activité antiépileptique: Clonazépam.

Si le cycle A est substitué par un groupement thiophène (clotiazépam) conserve l'activité anxiolytique.

Sur le cycle B :

Si le radical substitué en 1 R1 = méthyle l'activité de la molécule augmente.

Si le radical substitué en 1 R3 = carboxyle : la molécule est une prodrogue et nécessite une activation pour donner un métabolite actif.

Ex : clorazébate.

Sur le cycle C :

- Le cycle C représente un groupement actif. Sa suppression induit une perte d'activité (*Flumazénil* : Anéxate®).
- Sa substitution par un halogène induit une augmentation de l'activité (F>Cl>H)

Pharmacocinétique des benzodiazépines

Absorption

Voie orale

Se fait au niveau de la partie haute du tube digestif, rapide et complète, les concentrations maximales sont entre 2-4h.

- Certains composés sont résorbés plus rapidement avec un Tmax entre 30 minutes et 2 heures (*diazépam*: Valium® ; *clotiazépam*: Vératran®).
- D'autres molécules, notamment le *prazépam* (Lysanxia®) et le *Clonazépam* (Rivotril®), ont en revanche une absorption plus lente (Tmax entre 3 et 6 h).

La présence d'aliment ou de substance antiacide ralentit le transit digestif, diminuent l'abs et donc le délai d'action.

Le *clorazébate* et le *prazépam* : métabolisés le 1^{er} dans l'estomac le 2^{ème} dans le foie en *desméthyl-diazépam* qui seul atteint la circulation générale.

Voie intraveineuse

Le *diazépam* et le *chlordiazépoxide* entraîne une résorption irrégulière moins complète et plus lente que la voie orale.

Voie rectale

Satisfaisante dans les convulsions de l'enfant lorsque la voie IV ne peut être utilisée.

Distribution

Les BZD étant des composés lipophiles :

Elles présentent une bonne pénétration tissulaire.

Diffusion importante à travers la barrière placentaire.

Passage de la barrière hémato-encéphalique variable selon lipophilicité:

Affecte l'accessibilité au site d'action pharmacologique.

Diazépam et triazolam : très liposolubles, action rapide.

Lorazépam : moyennement liposoluble, activité plus tardive.

La fixation aux protéines plasmatiques varie selon la molécule 75-95%, principalement sur l'albumine:

Affecte la durée d'action en diminuant l'excrétion.

Mais ne semble pas entrer en compétition avec d'autres médicaments.

Métabolisme

La biotransformation est essentiellement hépatique, qui est le facteur essentiel de leur clairance et seul un infime pourcentage de la dose administrée est éliminé sous forme inchangée.

Les principales réactions sont des réactions d'oxydation microsomiales.

(déméthylation et hydroxylation) qui donnent naissance à des composés actifs.

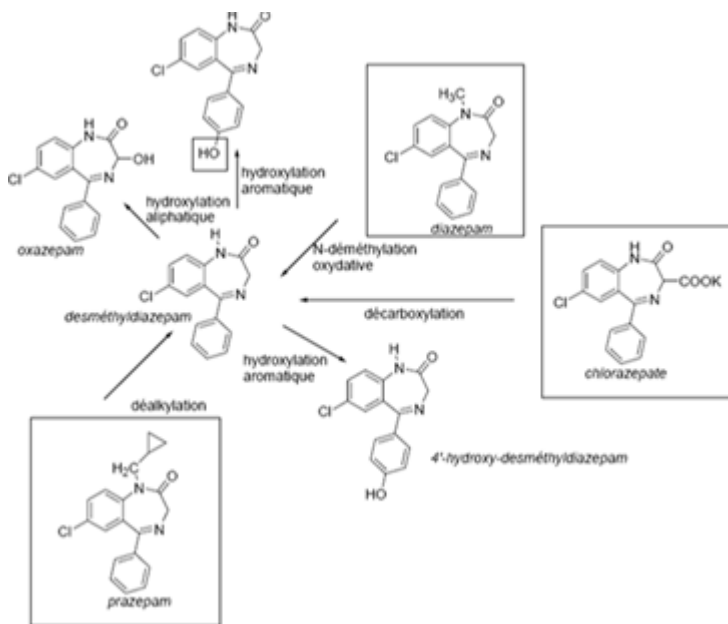
Les métabolites sont dans un deuxième temps glucuroconjugés (ce qui les rend inactifs), puis éliminés dans les urines.

Le N-desméthyldiazépam (DMDZ ou nordiazépam ou NORDAZ ou nordazépam), principal métabolite de nombreuses BZD, a une demi-vie d'environ 65 heures. Lui-même est métabolisé en oxazépam (le SÉRESTA).

La demi-vie des BZD elles-mêmes a donc souvent peu de signification hormis pour les composés ne possédant pas de métabolites actifs (la plupart des BZD hypnotiques).



Figure 6 : Métabolisme des benzodiazépines.



Élimination

Les benzodiazépines sont essentiellement éliminées par voie rénale sous forme de métabolites glucuroconjugués, une faible fraction est éliminée par voie biliaire. Les benzodiazépines sont également retrouvées dans le lait maternel.

La demi-vie est variable selon les produits et permet leur classement:

Benzodiazépine	Pic sanguin (heures)	Demi-vie (heures)
Alprazolam	1-2	12-15
Chlordiazépoxyde	2-4	15-40
Clorzébate	1-2	50-100
Diazépam	1-2	20-80
Flurazépam	1-2	40-100
Lorazépam	1-6	10-20
Oxazépam	2-4	10-20
Triazolam	1	2-3

Figure 7 : classification des benzodiazépines en fonction de la demi-vie d'élimination.

Substance	Nom de marque (CH)	Dosage (mg)	T _{max} (h)	t _{1/2} (h)	Métabolites actifs ¹
Alprazolame	Xanax	0,25-4	1-2	12-15 (m)	+
Bromazepame	Lexotanil	1,5-9	1-2	15-28 (m)	+
Clorazepate	Tranxilium	5-50	1-1,5	25-60 (l)	+
Clobazame	Urbanyl	15-60	1,5-2	20-50 (l)	+
Clonazepame	Rivotril	1-4	2-4	20-60 (l)	+
Diazepame	Valium	5-20	0,5-1,5	24-80 (l)	+
Lorazepame	Temesta	1-7,5	1-2,5	12-16 (m)	-
Oxazepame	Seresta	30-60	2-3	7-11 (c)	-
Prazepame	Demetrin	10-30	1-2	50-80 (l)	+

Demi-vie (c) courte, (m) moyenne, (l) longue
 T_{max} (h) = Temps de latence jusqu'à la concentration plasmatique maximale (heures).
¹ Risque de cumulation

Figure 8 : Tableau des caractères pharmacocinétiques des benzodiazépines

Mode d'action des benzodiazépines

Pharmacologie de l'anxiété

Il est admis aujourd'hui que les états d'anxiété résultent d'une hyperactivité de la région amygdalienne du cerveau (région largement impliquée dans la modulation de l'affectivité mais aussi dans les processus de mémoire), liée à un hypofonctionnement de la transmission synaptique gabaergique inhibitrice.

Un dysfonctionnement des récepteurs GABA-A et/ou un déséquilibre des concentrations en (GABA) dans le cerveau (le neurotransmetteur inhibiteur le plus important du SNC), jouent ainsi un rôle majeur dans la physiopathologie de l'anxiété.

Les benzodiazépines endogènes

Des substances identiques aux benzodiazépines thérapeutiques ont été détectées dans le cerveau d'animaux puis d'hommes n'ayant jamais reçu de traitement de ce type: diazepam et N-desméthyl-diazepam.

Origine non connue: alimentaire végétale, bactérienne intestinale ou endogène??

L'action physiologique de ces ligands endogènes pourrait expliquer les différences interindividuelles concernant le niveau basal d'anxiété.

► *β-carbolines* (agonistes inverses).

Mise en évidence de substances endogènes se liant aux récepteurs BZD induisant anxiété et convulsions: action psychoactive.

► *La tribuline*: retrouvée dans les urines et le système nerveux central, se lie au récepteur BZD. Sa sécrétion est élevée lors des sevrages alcooliques, sevrage des BZD, dans l'anxiété généralisée et le syndrome post-traumatique.

► *Les endozépines* et diazepam binding inhibitor. Peptides endogènes capable de se fixer sur le récepteur BZD dérivées d'un polypeptide diazepam binding inhibitor: effet agoniste inverse capable de déplacer BZD et β carbolines.

Le récepteur GABA

Constitué de 5 sous-unités (pentamérique) glycoprotéiques, disposées en couronne de telle façon qu'elles ménagent entre elles un canal permettant le transfert des ions de part et d'autre de la membrane neuronale.

Chaque sous-unité est constituée :

- Domaine extra-mb = fixation du GABA et d'autres effecteurs.
- Domaine hydrophobe membranaire = qui définit le pore.

Le R GABA-A est constitué de plusieurs variant de s/s unités α , β , et γ (Principale type (2 α 1, 2 β 2, γ 2)).

Le fonctionnement du R GABA

Les différentes étapes :

- Fixation coopérative de 2 molécules de GABA.
- Changement de conformation du récepteur = ouverture
- Passage des ions chlorures.
- Le potentiel du neurone s'éloigne du seuil d'activation des canaux sodiques dépendant du voltage.
- Difficulté de passage d'une vague de potentiel d'action.

Donc le GABA est un neurotransmetteur dit inhibiteur.

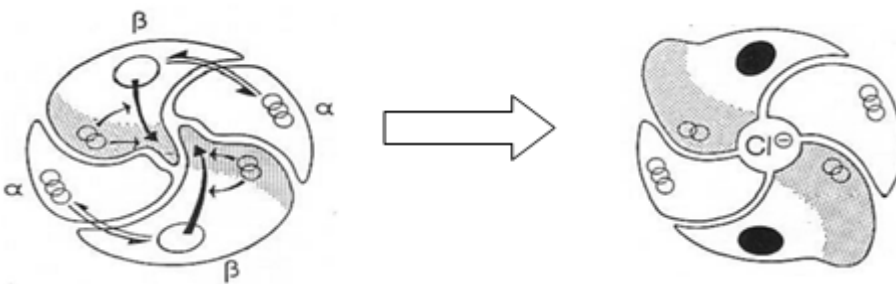


Figure11 : le fonctionnement du récepteur GABA-A.

La fixation des BZD sur un site allostérique du récepteur augmente la puissance du GABA (mais pas son efficacité maximale)

Les benzodiazépines potentialisent l'action du GABA sur les récepteurs GABA-A en augmentant la probabilité d'ouverture du canal en réponse au GABA et en augmentant l'affinité du GABA pour son récepteur.

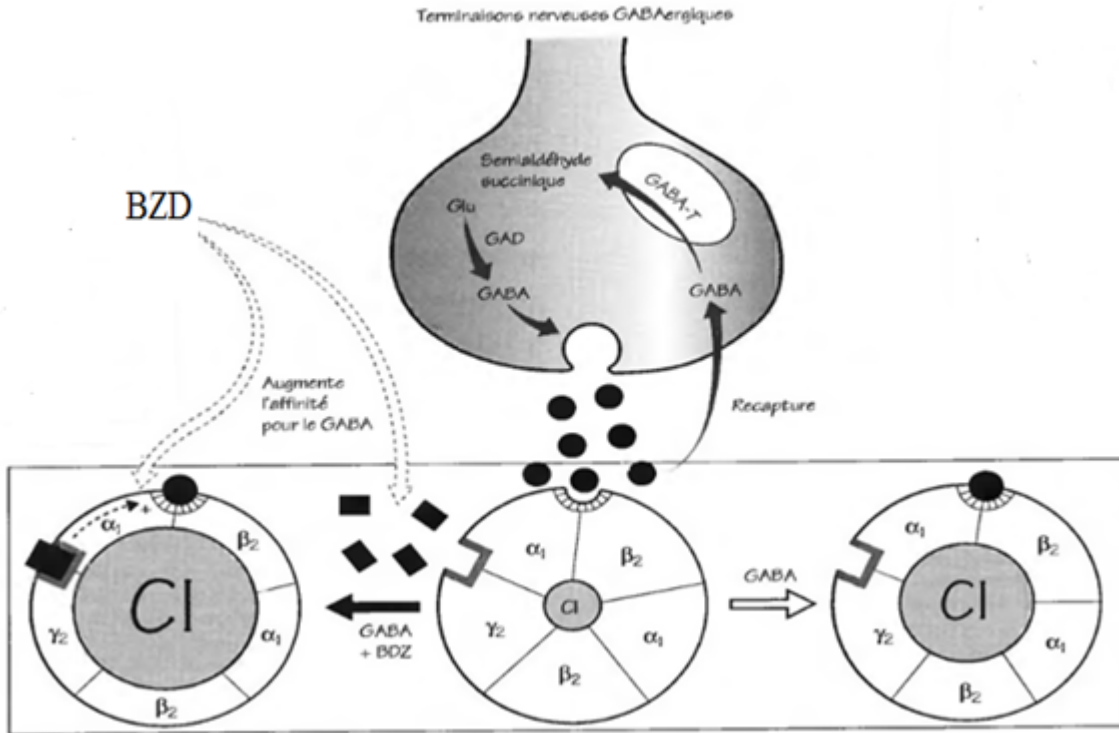


Figure 12 : le mode d'action des benzodiazépines.

Comme l'anxiété est associée à une hyperactivité neuronale, il paraît logique d'activer les récepteurs du GABA pour diminuer cette hyperactivité. Il n'est pas possible d'utiliser des agonistes du GABA (car l'inhibition serait trop forte), mais des molécules qui facilitent son action.

Propriétés pharmacologiques des benzodiazépines

Propriétés Centrales

a - Anxiolytique:

Les BZD atténuent les réactions émotionnelles exagérées induites par la peur, les frustrations, ...

b – Sédatifs et hypnotiques:

- Diminution du temps de latence (d'apparition) du sommeil et augmente sa durée totale.
- Action accentuée par les propriétés myorelaxantes.
- Diminution du niveau de vigilance, de l'activité et de la réactivité psychomotrice.

c – Antiépileptiques:

- Traitement crises épileptiques aigu par voie intraveineuse : *le diazépam*.
- Traitement ambulatoires de certaines épilepsies par voie orale : Le

d – Myorelaxants:

- Généralement : effet indésirable.
- Peut être indiqué : le *tétrazépam (MYOLASTAN)* traitement d'appoint des contractures.

Propriétés périphériques

Effets cardiovasculaires: (sont très limités et liés en partie de leurs effets centraux): Diminution de la pression artérielle.

Effets respiratoires: Dépression respiratoire.

Effets digestifs: (secondaires à leurs effets centraux):

- Diminution du volume de la sécrétion gastrique et notamment du débit acide,
- Ralentissement du transit chez les patients présentant une hypermotilité.
- Pas d'effets antispasmodique et anticholinergique .

Indications des benzodiazépines

PSYCHIATRIE

- Traitement symptomatique des manifestations anxieuses sévères et/ou invalidantes.
- Prévention et traitement du delirium tremens du sevrage alcoolique
- complément des antidépresseurs (en attendant l'effet thérapeutique de ceux-ci) dans le traitement des (TOC), des syndromes dépressifs, des attaques de panique et du « trouble panique ».

NEUROLOGIE

- Certaines épilepsies de l'adulte et de l'enfant : diazépam, clonazépam et clobazam).

ANESTHÉSIOLOGIE

- Prémédication par voie orale,
- Anesthésie générale par IV : Flunitrazépam (NARCOZEP).midazolam (HYPNOVEL)

AUTRES

- Désintoxication à l'alcool
- Psychose aiguë avec hyperexcitabilité et agressivité.

Effets indésirables des benzodiazépines

Somnolence et sédation

- La somnolence est l'effet indésirable le plus courant. Elle s'estompe généralement en quelques semaines, ou après diminution de la L'effet sédatif peut être responsable d'une asthénie.

Dépendance

- La prise de doses fortes ou de doses usuelles de façon prolongée peut induire des états de dépendance psychique, voire physique, exposant à un syndrome de sevrage.

Syndrome de sevrage

- Sévère si arrêt brutal de l'administration (ou si administration d'un antagoniste des récepteur benzodiazépines, Flumazénil).

Peut apparaître: immédiatement (avec les composés à T1/2 courte) ou ultérieurement (jusqu'à 3 semaines) (avec les composés à T1/2 longue).

Symptômes

- Dysfonctions neurovégétatives : troubles gastro-intestinales, hypertension, tachycardie. céphalées, étourdissement, insomnie, irritabilité, anxiété.
- Troubles des perceptions sensorielles, hallucinations, mouvements anormaux.

Ainsi l'arrêt du traitement devra toujours être progressif, surtout pour les BZD à demi-vie moyenne ou courte, afin d'éviter tout phénomène de rebond (essentiellement anxiété, insomnie, rarement crises d'épilepsie).

Hypotonie musculaire

Une diminution du tonus musculaire.

Effets psychiques

- Amnésie antérograde décrite initialement pour l'administration IV mais qui a été également objectivée pour la voie orale à des posologies usuelles.
- Désinhibition pouvant produire des troubles du comportement.
- Réactions paradoxales à titre d'agressivité, troubles de l'humeur.

Effets indésirables divers

Ils sont très variés mais exceptionnels :

- éruptions cutanées et dépression respiratoire (surtout en cas de BZD I.V).

Ces situations ont amenées à réglementer la prescription des BZD:

4 semaines pour les benzodiazépines à propriétés hypnotiques.

12 semaines pour les benzodiazépines à propriétés anxiolytiques.

Contres indications des benzodiazépines

Contres indications absolues

Insuffisance respiratoire sévère.

Syndrome d'apnée du sommeil.

Insuffisance hépatique sévère

Hypersensibilité aux benzodiazépines.

Contres indications relatives

Myasthénie, insuffisance hépatique, insuffisance rénale, insuffisance respiratoire modérée.

Association avec l'alcool, enfant moins de 15 ans.

la femme enceinte (car lipophile) et la femme qui allaite.

chez le déprimé :

Prescrites seules, elles ne constituent pas un traitement de la dépression et peuvent même en cacher les signes.

chez les conducteurs de véhicules et les utilisateurs de machines : baisse de la vigilance, et aussi l'effet myorelaxant.

Interactions médicamenteuses

Interactions médicamenteuses pharmacocinétiques

Inhibition du cytochrome CYP	Lithium, Cimétidine, Érythromycine.	Augmentation de l'effet sédatif
------------------------------	-------------------------------------	---------------------------------

Induction enzymatique Phénobarbital, Rifampicine. Diminution de l'activité

Interactions médicamenteuses pharmacodynamiques:

Interaction pharmacodynamique Morphinique
Augmentation de la dépression respiratoire Antagonisme compétitif
Autres BZD

Diminution de l'activité

Interaction avec l'alcool :

-Prise aiguë: Il ya potentialisation de la réponse Gabaergique. Les effets sont dépresseurs sur le SNC.

-Prise chronique : Il ya désensibilisation des récepteurs Gabaergique. Les effets sont excitateurs.

Toxicité des Benzodiazépines

Toxicité aiguë

Circonstances : Accidentelle : enfant++Volontaire : tentative de suicide

Leur toxicité dépend:

La molécule considérée (le triazolam est l'une des molécules les plus dangereuses).

L'âge du consommateur (enfant, personne âgée), de l'existence ou non de certaines pathologie.

Molécule	Adulte (mg)	Enfant (mg/kg)
Diazépam (VALIUM®)	500	5
Clorzépatate dipotassique (TRANXENE®)	500	5

Lorazépam (TEMESTA®)	100	1
Flunitrazépam (ROHYPNOL®)	20	0,02

Figure 12 : Tableau des doses toxiques de certaines benzodiazépines.

Symptômes

- La phase initiale : trouble du comportement, agitation, agressivité et ébriété.
- Aggravation des effets sédatifs (sommolence, obnubilation pouvant aller jusqu'au coma calme hypotonique).
- Dépression respiratoire chez l'enfant ou personne âgé.
- Hyperexcitabilité sinusale, hypotension surtout avec les BZD d'action rapide.
- Pronostic favorable et rarement mortelle (sujet âgé, BZD d'action rapide).

Traitement des intoxications aux benzodiazépines

Traitement symptomatique

- Suffisant dans la majorité des cas.
- en cas de coma : intubation trachéale et ventilation assistée.
- le LG n'est pas systématique et ne sera effectué qu'en cas de prise récente d'une quantité élevée et/ou d'une symptomatologie sévère.
- 50 g de charbon activé.
- La diurèse osmotique neutre peut faciliter l'élimination.

Traitement spécifique (antidote)

Flumazénil (ANEXATE®)

- C'est un antagoniste pur et spécifique des BZD
- forme injectable : ampoules de 5ml [0,5 mg] ou de 10ml [1 mg]).
- effet rapide et spectaculaire en 30s à 3mn.
- injections successives de 0,2 à 0,3mg par IV jusqu'à levée de la dépression respiratoire et réveil du malade puis perfusion continue sinon il y a réendormissement du patient.
- bonne tolérance, à part quelques nausées et vomissements.

Toxicité chronique

En chronique les effets secondaires des BZD peuvent être augmentés:

- Troubles de la vigilance ;
- Altération des performances physiques ;
- Chez les sujets âgés : confusion mentale, hypotonie musculaire ;
- Troubles de la concentration, amnésie antérograde ;
- Etat dépressif ; en cas d'effets paradoxaux (hostilité, insomnies).

Toxicologie analytique

Fréquemment prescrites, les BZD sont souvent recherchées dans le cadre d'une intoxication aiguë volontaire ou accidentelle.

Bien que les intoxications par ces médicaments soient le plus souvent bénignes, le clinicien attend du laboratoire une réponse rapide et fiable lui permettant de confirmer ou d'infirmer la réalité de l'intoxication, expliquant ainsi la mise au point de nombreuses méthodes de détection des BZD dans les liquides biologiques.

3 groupes de méthodes peuvent être distingués:

- Méthodes de dépistage: identification rapide de la classe du médicament incriminé.
- Techniques d'identification: de la (ou des) molécule(s) en cause, bien adaptées à l'urgence mais présentant certaines limites.
- Méthodes de dosage: des molécules incriminées, peu utilisées dans un contexte d'urgence.

L'analyste (toxicologue) doit de bien connaître les spécificités et limites de chaque méthode employée pour fournir au clinicien un résultat de qualité.

Dépistage

Principe

- Compétition entre un antigène marqué (benzodiazépine) et un antigène non marqué (composé recherche dans l'échantillon biologique) (BZD) vis-à-vis d'un anticorps spécifique.
- Les benzodiazépines prises comme référence (*oxazepam* ou *nordiazepam*).
- Qualitatives et, les seuils de positivité se situent entre 100 -300 ng/ml.
- Milieux biologiques de choix: Le sang + urines.

Principales techniques

- *La technique radio-immunologique (RIA): (radio immunoassay)*

Mesure de la radioactivité.

Avantages:

- Bonne spécificité.
- Adaptée aux grandes séries.

Inconvénients:

- Bas niveau de détection.
- Peu utilisée en urgence en raison de la manipulation des radio-isotopes.

- *La technique EMIT: (Enzyme Multiplied Immune assay Technic)*

Echantillons urinaires ou sériques, automatisables.

- *La technique FPIA (Cobas integra): (Fluorescence Polarisation Immune-Assay)*

Par polarisation de fluorescence le test mesure les benzodiazépines sériques.

Avantages:

- Automatisables et ne nécessitant aucun traitement préalable de l'échantillon.
- Dépistage rapide des benzodiazépines

Inconvénients:

- Faux positifs.
- Faux négatifs.

- *La méthode KIMS (Cobas integra)*

mesure turbidimétrique : l'inhibition d'agglutination de particules pour la détection des benzodiazépines urinaires.

Les tests unitaires sur support solide (test stick)

Bonnes performances, notamment en terme de niveau de détection et leur spécificité

Toutes ces techniques immuno-enzymatiques sont bien adaptées à l'urgence, leur utilisation exige un strict respect des indications fournies par le fabricant de réactifs et, en cas d'automatisation, celui des procédures de validation et de contrôle propres à l'automate utilisé.

Identification

Chromatographiques et spectrales.

Extraction

En milieu alcalin pH = 9, solvant : l'éther ou un autre solvant approprié.

Chromatographie sur couche mince CCM

- Système de migration : TA : 100 Méthanol +1.5 Ammoniaque
- $R_f = 0.8 - 0.9$.
- l'acide phosphorique : Fluorescence jaunâtre. (peu sensible).
- Iodoplatinate acide : + gris violacée. (peu sensible).
- Limite de détection : 100 - 400 ng/ml.

Spectre UV

- Si les résidus d'extraction sont suffisamment importants:
- Ils peuvent être repris dans L'HCL 2N.
- Soumis à un examen spectrophotométrie UV.
- On obtient 2 pics à 240 et 285 nm.

Avantages et limites:

- prétraitement simple
- Plus au moins automatisable
- résultat semi-quantitatif.
- résolution insuffisante
- caractéristiques spectrales analogues de c molécules
- interférences avec substances endogènes.

Quantification

Diazocopulation :

L'hydrolyse acide et à chaud des BZD et de leurs métabolites aboutit à la formation d'une amine aromatique primaire diazocopulable de coloration violette, que l'on peut caractériser et doser par spectrophotométrie à 550nm.

Limite:

- Réaction croisée avec autre molécules diazocopulable : Paracétamol
- BZD non diazocopulables : diazépam, tetrazépam.
- Seul de quantification élevé 50 µg/ml.

CPG: Chromatographie phase gaseuse: Détecteur:

- capture d'électron (CPG-CE),
- azote-phosphore (CPG-NPD)
- Spectromètre de masse GC -SM.

La GS-SM offre le double avantage de la quantification et de l'identification formelle des BZD avec une limite de détection souvent basse.

Limites: Problèmes liés principalement à la thermolabilité de la plupart des BZD.

HPLC Chromatographie liquide haute performance :

Technique de choix pour la détermination des Cs et Cu des BZD ;

- Une seule étape de préparation des échantillons (extraction L-L ou en L-S).
- Temps analyse très court (5 à 10 minutes), compatible avec l'urgence
- Pas de dégradation
- Le couplage avec la SM (HPLC-SM ou SM-SM) constitue la méthode de choix pour l'identification et la quantification des

L'électrophorèse capillaire :

- Mise en œuvre simple, automatisable : injecter directement l'échantillon
- la définition des conditions optimales de séparation des molécules rendent actuellement difficile l'exploitation en routine de cette