



HAL
open science

La salive en médecine légale : revue de la littérature

Adrien Schom

► **To cite this version:**

Adrien Schom. La salive en médecine légale : revue de la littérature. Sciences du Vivant [q-bio]. 2019. dumas-02169953

HAL Id: dumas-02169953

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02169953>

Submitted on 1 Jul 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

AVERTISSEMENT

Cette thèse d'exercice est le fruit d'un travail approuvé par le jury de soutenance et réalisé dans le but d'obtenir le diplôme d'État de docteur en chirurgie dentaire. Ce document est mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt toute poursuite pénale.

UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES

FACULTÉ DE CHIRURGIE DENTAIRE

Année 2019

N° 013

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE

Présentée et soutenue publiquement le : 15 mai 2019

Par

Adrien SCHOM

La salive en médecine légale : revue de la littérature

Dirigée par M. le Professeur Bruno Gogly

JURY

M. le Professeur Bruno Gogly

Président

M. le Docteur Jean Claude Tavernier

Assesseur

Mme le Docteur Hafida Cherifi

Assesseur

M. le Docteur François Ferré

Assesseur

M. le Docteur Pierre-Toussaint Camilli

Invité



Tableau des enseignants de la Faculté

DÉPARTEMENTS	DISCIPLINES	PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS	MAÎTRES DE CONFÉRENCES
1. DÉVELOPPEMENT, CROISSANCE ET PRÉVENTION	ODONTOLOGIE PÉDIATRIQUE	Mme DAVIT-BÉAL Mme DURSUN Mme VITAL	M. COURSON Mme JEGAT Mme SMAIL-FAUGERON Mme VANDERZWALM
	ORTHOPÉDIE DENTO-FACIALE		Mme BENAHMED M. DUNGLAS Mme KAMOUN-GOLDRAT Mme LE NORCY
	PRÉVENTION, ÉPIDÉMIOLOGIE, ÉCONOMIE DE LA SANTÉ ET ODONTOLOGIE LÉGALE	Mme FOLLIGUET M. PIRNAY	Mme GERMA M. TAVERNIER
2. CHIRURGIE ORALE, PARODONTOLOGIE, BIOLOGIE ORALE	PARODONTOLOGIE	Mme COLOMBIER Mme GOSSET	M. BIOSSE DUPLAN M. GUEZ
	CHIRURGIE ORALE	M. MAMAN Mme RADOI	Mme EJEIL M. GAULTIER M. HADIDA M. MOREAU M. NGUYEN
	BIOLOGIE ORALE	Mme CHAUSSAIN M. GOGLY Mme SÉGUIER Mme POLIARD	M. ARRETO Mme BARDET (MCF) Mme CHARDIN M. FERRE M. LE MAY
3. RÉHABILITATION ORALE	DENTISTERIE RESTAURATRICE ENDODONTIE	Mme BOUKPESSI Mme CHEMLA	Mme BERÈS Mme BESNAULT M. BONTE Mme COLLIGNON M. DECUP Mme GAUCHER
	PROTHÈSES		M. CHEYLAN M. DAAS M. DOT M. EID Mme FOUILLOUX-PATEY Mme GORIN M. RENAULT M. RIGNON-BRET M. TIRLET M. TRAMBA Mme WULFMAN
	FONCTION-DYSFONCTION, IMAGERIE, BIOMATÉRIEAUX	M. SALMON	M. ATTAL Mme BENBELAID Mme BENOÎT A LA GUILLAUME (MCF) M. BOUTER M. CHARRIER M. CHERRUAU M. FLEITER Mme FRON CHABOUIS Mme MANGIONE Mme TILOTTA
	PROFESSEURS ÉMÉRITES	M. BÉRENHOLC Mme BRION M. LASFARGUES M. LAUTROU M. LEVY	M. PELLAT M. PIERRISNARD M. SAFFAR Mme WOLIKOW

Mise à jour le 04 septembre 2018

Remerciements

À M. le professeur Bruno Gogly

Docteur en Chirurgie dentaire

Docteur de l'Université Paris Descartes

Spécialiste qualifié en Médecine bucco-dentaire

Habilité à Diriger des Recherches

Professeur des Universités, Faculté de Chirurgie dentaire Paris Descartes

Praticien Hospitalier, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris

Pour votre soutien indéfectible et votre grande disponibilité, pour votre humour et votre bonne humeur en toutes circonstances, pour tout ce que vous apportez aux étudiants du service. Pour avoir reçu certains de mes patients à l'hôpital, pendant que, dans votre bureau, j'achevais la rédaction de cette thèse d'exercice, je vous remercie et suis honoré que vous ayez accepté de présider mon jury.

À M. le Docteur Jean-Claude Tavernier

Docteur en Chirurgie dentaire

Docteur de l'Université Paris Descartes

Maitre de Conférences des Universités, Faculté de Chirurgie dentaire Paris Descartes

Praticien Hospitalier, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris

Chevalier de l'ordre national du mérite

Officier de l'ordre des palmes académiques

Apprécié de tous les étudiants de Montrouge pour vos qualités humaines, vous avez marqué les étudiants et la Faculté par votre singularité. Je suis heureux d'avoir fait votre connaissance et de vous compter parmi mes enseignants.

À Mme le Docteur Hafida Cherifi

Docteur en Chirurgie dentaire

Docteur de l'Université Paris-Est

Praticien Hospitalier, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris

Pour votre gaîté au quotidien. Pour votre proximité avec les étudiants et votre enthousiasme à enseigner. Je vous remercie pour ces années d'encouragements et de patience.

À M. le Docteur François Ferré

Docteur en Chirurgie dentaire

Docteur de l'Université Paris Descartes

Maitre de Conférences des Universités, Faculté de Chirurgie dentaire Paris Descartes

Praticien Hospitalier, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris

Pour votre grande accessibilité aux étudiants, votre humilité et votre bienveillance. Votre passage par le service d'Odontologie de Créteil a laissé beaucoup de bons souvenirs.

À M. le Docteur Pierre-Toussaint Camilli

Docteur en Chirurgie dentaire

Chaudement recommandé par l'Ordre d'Eure-et-Loir, pour avoir achevé ma formation, pour m'avoir appris à concilier bonnes pratiques et pratique du cabinet. Pour notre complicité au quotidien et notre passion pour les moteurs à plat, je suis honoré d'avoir pu apprendre à vos côtés.

Table des matières

INTRODUCTION	4
1 : COMPOSITION BIOCHIMIQUE DE LA SALIVE	5
1.1 DIFFERENTES SALIVES	5
1.1.1. <i>La salive totale</i>	5
1.1.2. <i>La salive pure</i>	5
1.1.3. <i>La salive mixte</i>	5
1.2 LES GLANDES SALIVAIRES	6
1.2.1 <i>Les glandes parotides</i>	6
1.2.2 <i>Les glandes sous-mandibulaires</i>	6
1.2.3. <i>Les glandes sublinguales</i>	6
1.2.4. <i>Les glandes accessoires</i>	6
1.3. CONTROLE NERVEUX DE LA SALIVATION	6
1.4. LE DEBIT SALIVAIRE	7
1.4.1 <i>Définition et valeur en conditions normales</i>	7
1.4.2 <i>Variations du débit salivaire</i>	7
1.5. LE PH DE LA SALIVE.....	8
1.6. LES PROTEINES SALIVAIRES	8
1.6.1. <i>Les protéines riches en proline</i>	8
1.6.2. <i>Les immunoglobulines dans la salive</i>	9
1.6.3. <i>Les enzymes de la salive</i>	9
1.7. LES LIPIDES DE LA SALIVE	10
1.8. LES GLUCIDES DE LA SALIVE	10
1.9. LES HORMONES DANS LA SALIVE	10
1.10. LES IONS	10
2 : PANORAMA DES SUBSTANCES PRELEVEES	12
2.1. RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE.....	12
2.2. LES SUBSTANCES RECHERCHEES	13
2.2.1. <i>Le cannabis, le delta 9 tétrahydrocannabinol (THC)</i>	13
2.2.2. <i>Les opiacés</i>	15
2.2.3. <i>La cocaïne</i>	16
2.2.4. <i>Les amphétamines</i>	16
2.2.5. <i>Les médicaments</i>	17

2.2.6. Les substances oubliées	18
3 : PHYSIOLOGIE DU PASSAGE DANS LA SALIVE.....	19
4 : PROCEDURES DE COLLECTE ET D'ANALYSES.....	21
4.1. LES PROCEDURES DE COLLECTE.....	21
4.1.1. Les généralités.....	21
4.1.2. La stimulation salivaire.....	21
4.1.3. La collecte primaire de la salive.....	22
4.2. L'IMMUNOMARQUAGE	23
4.3. LES TESTS EN PRATIQUE.....	24
4.3.1. La sensibilité	28
4.3.2. La spécificité	29
4.3.3. Précision, valeurs prédictives positive et négative	29
4.3.4. Valeurs cibles.....	31
4.4. CHROMATOGRAPHIE PHASE LIQUIDE, GAZEUSE ET SPECTROMETRIE DE MASSE	31
5 : TROUVER, IDENTIFIER, PRELEVER DE LA SALIVE.....	33
5.1. LES TESTS ENZYMATIQUES	33
5.2. LES TESTS D'IMMUNOMARQUAGE	35
5.3. LES MICROARN	37
5.4. FLUORESCENCE ET SPECTROSCOPIE RAMAN	37
5.4.1. Fluorescence	37
5.4.2. La spectroscopie Raman.....	38
5.5. RECUPERATION DE LA SALIVE EN CONDITIONS EXTREMES	39
6 : ADN ET CARACTERISATION D'UN INDIVIDU.....	43
6.1. RECUPERATION D'ADN DANS LA SALIVE	44
6.2. LES METHODES D'EXTRACTION DE L'ADN	44
6.3. ÉLÉMENTS RECHERCHES DANS L'ADN	44
7. INTERET COMPARATIF SALIVE, SANG ET URINE.....	46
8 : REFLEXION ETHIQUE.....	50
8.1. POUR LES TESTS SALIVAIRES AUX STUPEFIANTS	50
8.2. POUR L'UTILISATION DE LA SALIVE AFIN D'IDENTIFIER UN INDIVIDU PAR SON ADN.....	51
CONCLUSION.....	53
BIBLIOGRAPHIE	54
TABLE DES FIGURES.....	58

TABLE DES TABLEAUX..... 59

Introduction

La salive intéresse de plus en plus dans les domaines des analyses médicales comme support de diagnostic en alternative au sang et à l'urine, de par ses avantages : un accès non invasif, sans atteinte à la dignité ni à l'intégrité du corps humain, et sa facilité d'accès même par des personnels peu qualifiés.

En médecine légale elle présente en plus l'avantage de pouvoir être prélevée sous surveillance permanente. La salive est le fluide biologique issu du mélange des sécrétions des glandes salivaires, du fluide gingival, des cellules exfoliées de l'épithélium buccal et de flore buccale. Sa composition, en lien étroit avec celle du plasma sanguin, permet d'y détecter drogues, médicaments et poisons. Retrouvée sur des scènes de crime lors d'un contact avec la cavité buccale, le contenu cellulaire y autorise des analyses ADN qui peuvent permettre d'identifier un suspect, humain ou animal.

Dans une première moitié de ce travail nous proposons d'étudier les tests salivaires de détection des produits stupéfiants. Dans la seconde moitié nous nous consacrerons aux techniques liées à l'analyse de la salive pour aider aux enquêtes policières.

1 : Composition biochimique de la salive

1.1 Différentes salives ¹

1.1.1. La salive totale

La salive totale ou fluide buccal (oral fluide OF), recueillie dans la bouche ou par expectation. Elle représente la somme de toutes les salives pures de chaque glande salivaire ainsi que des éléments d'origine buccale :

- Le fluide gingival, dont la qualité et la quantité dépendent du degré d'atteinte parodontale, il est de composition biochimique proche du plasma et contient des cellules immunitaires.
- Des cellules desquamées par les différentes muqueuses buccales
- Des mucus et cellules d'origine pulmonaire
- Des microorganismes de la plaque bactérienne, virus et champignons : la flore commensale
- Tartre et autres débris alimentaires.
- Dépôts d'origine ni buccale ni alimentaire. Des traces de combustion laissées par du tabac ou du cannabis, traces de cocaïne, médicaments

1.1.2. La salive pure

La salive pure est obtenue directement à l'ostium d'une glande salivaire. Sa composition est caractéristique de la glande concernée. Elle ne comporte aucun élément d'origine buccale.

1.1.3. La salive mixte

Obtenu par centrifugation de la salive totale, elle est donc théoriquement dénuée de cellules desquamées, bactéries ou reste d'aliments.

La salive mixte est sensée permettre une analyse plus facile de la salive, toutefois l'agrégation de glycoprotéines, la précipitation de protéines et d'ions ainsi que des dépôts sur les parois lors de la centrifugation peuvent fausser des résultats ultérieurs. C'est notamment le cas de certaines drogues adsorbées par les conteneurs de prélèvements.

¹ Humphrey et Williamson, « A review of saliva : normal composition, flow, and function ».

1.2 Les glandes salivaires

Nous avons deux catégories de glandes salivaires :

Les glandes principales, qui sont paires et volumineuses. Elles sont au nombre de trois paires, les parotides, sublinguales et sous mandibulaires.

Les glandes salivaires accessoires, elles sont petites, nombreuses et sont situées sous les muqueuses dans toute la bouche, préférentiellement au niveau de la langue, des joues et des lèvres.

1.2.1 Les glandes parotides

Les parotides sont des grosses glandes de forme pyramidale situées en arrière de la branche montante de la mandibule et en dessous de l'oreille externe. La salive sécrétée par les glandes parotides est principalement séreuse déversée dans la bouche par le canal de Sténon dont le méat aboutit au niveau de la 2^e molaire supérieure.

1.2.2 Les glandes sous-mandibulaires

De forme pyramidale, située sous la face interne du corps mandibulaire. Elle sécrète une salive séreuse et muqueuse qui se déverse par le canal de Wharton.

1.2.3. Les glandes sublinguales

Plus petite des glandes salivaires principales, les glandes sublinguales se situent entre les faces internes de la symphyse et du corps mandibulaire en avant et en dehors et la langue en dedans.

Ces glandes sécrètent une salive séreuse et muqueuse à la fois.

1.2.4. Les glandes accessoires

Elles sont nombreuses, petites et dispersées sur toutes les muqueuses buccales sauf le dos de la langue. Leur sécrétion est uniquement muqueuse.

1.3. Contrôle nerveux de la salivation

La quantité et la qualité de sécrétion de salive sont sous contrôle nerveux sympathique et parasympathique, respectivement par les médiateurs adrénaline et acétylcholine, par les noyaux salivaires supérieur et inférieur.

Les fibres proviennent du nerf facial et du nerf glosso-pharyngien.

La stimulation sympathique oriente la salivation vers une salive plus épaisse, visqueuse et peu abondante. La stimulation para-sympathique oriente vers une augmentation du débit d'une salive très fluide.

Les acteurs de la régulation peuvent être

- Des barorécepteurs ou des nocicepteurs des glandes salivaires qui entraînent une salivation réflexe.
- Des réflexes chimio-salivaires à l'intérieur de la bouche ou du tractus olfactif, nos amis gourmets sont bien au courant que le nez joue un rôle capital dans la gustation. L'activation des récepteurs de l'olfaction et de la gustation peuvent stimuler la sécrétion salivaire.
- Des réflexes trigéminaux proprioceptifs, au niveau des muscles de la mastication, de la langue et des articulations temporo mandibulaires sont activateurs de la salivation.
- Un conditionnement des réflexes par la vision, l'olfaction, l'audition, le souvenir d'un met agréable ou ayant procuré une émotion peuvent nous faire saliver d'avance en activant la sécrétion.

1.4. Le débit salivaire

1.4.1 Définition et valeur en conditions normales

Un homme adulte sain sécrète en moyenne 750 ml de salive par journée de 24 heures, de 600 à 1000. Ce débit est une moyenne sur 24 heures, le débit sur une minute mesurée ponctuellement atteint 1 à 2 ml par minutes. Rapporté sur une journée c'est environ la moitié de la salive qui est émise au moment des repas. Au cours du sommeil le débit salivaire tombe à 0.05ml/ minute.

Au repos la salive totale est sécrétée à 70 % par les glandes sous maxillaires, à 20% par les glandes parotides, 5% par les glandes sublinguales et 5 % par les glandes accessoires.

1.4.2 Variations du débit salivaire

Comme vu précédemment il existe de nombreuses façons d'augmenter le débit salivaire, olfaction/gustation, mouvements de la mâchoire, même un simple souvenir. Toutes ces méthodes ont rapport à la fonction d'alimentation de la bouche

Il existe d'autres paramètres qui interviennent dans le débit salivaire :

- Le degré d'hydratation, principalement de déshydratation du fait de pertes liquidiennes importantes causées par diarrhées, vomissement ou sudation, peut causer une baisse importante du débit salivaire. L'hyperhydratation entraîne, à l'opposé une augmentation de la salivation.

-Les médicaments parasymphathico-mimétiques, parasymphathicolytiques ou sympathico-mimétiques font varier le débit de salive. Les différentes chimiothérapies anticancéreuses font varier (augmenter puis presque arrêter) le débit salivaire.

-Certaines intoxications (plomb, chlore, cuivre, mercure ou certains médicaments) augmentent le débit salivaire. D'autres le réduisent (arsenic, opium et diverses drogues, ainsi que les neuroleptiques, antihypertenseurs et diurétiques).

-Les infections graves : septicémie, péritonite, syndrome de Sjögren ou irradiations de la région cervico-faciale par exemple peuvent réduire ou arrêter le débit salivaire. A l'inverse des affections du système nerveux central telles qu'encéphalites ou névralgies du trijumeau ainsi que le mal de mer, la grossesse ou les stomatites tendent à augmenter le débit salivaire.

-L'état nerveux peut faire diminuer le débit salivaire en cas de stress comme cela peut être le cas lors d'un contrôle routier par la police.

-Le débit salivaire dépend du sexe et de l'âge de la personne, il est plus important chez l'homme que chez la femme et a tendance à diminuer avec l'âge.

1.5. Le pH de la salive

Le pH de la salive est tamponné par les couples associés au bicarbonate, phosphate et protéinate selon l'équation d'Henderson Hasselbach. Comme le tampon bicarbonate est labile le pH de la salive en dehors de la bouche a tendance à augmenter par perte de dioxyde de carbone.

1.6. Les protéines salivaires

Les protéines salivaires représentent l'essentiel des composants organiques de la salive. Les éléments organiques sont présents en très faible concentration, environ 3 à 3.4 grammes par litre de salive, sur lesquels les protéines représentent 1 à 3 grammes par litre. Les différentes glandes salivaires produisent des salives de concentrations différentes en protéines.

On classe les protéines en plusieurs groupes :

1.6.1. Les protéines riches en proline

Elles constituent la majeure partie de la pellicule exogène acquise et contiennent plus de 25% de proline. On peut distinguer les PRP à caractère acide, à caractère basique et les PRP glycosylées.

Les PRP à caractère acide sont les plus nombreuses, elles comportent :

Les protéines A et C qui participent au maintien de l'émail grâce à leur capacité à s'adsorber dessus et leur affinité pour le calcium. Elles pourraient jouer un rôle de stabilisation de la concentration de calcium dans la bouche.

Les protéines B aussi appelées stathérines. Leur rôle est de limiter la croissance de cristaux de phosphate de calcium en limitant leur précipitation. Elles participent elles aussi à la protection de l'hydroxyapatite.

Les PRP à caractère basique et les PRP glycosylée participeraient à la viscosité de la salive.

Les mucines et les glycoprotéines salivaires.

Ce sont des molécules de poids moléculaire très élevé qui augmentent considérablement la viscosité de la salive. Elles forment un tapis de mucus qui recouvre toute la cavité buccale. Le rôle de ce mucus est d'humidifier le bol alimentaire, de lubrifier son passage vers l'estomac, de s'adsorber sur l'hydroxyapatite et sur les muqueuses de la bouche afin de les tapisser, de limiter la fixation de bactéries sur l'épithélium et de former des complexes avec les immunoglobulines A sécrétées. Elles présentent des antigènes des groupes sanguins.

1.6.2. Les immunoglobulines dans la salive

On trouve plusieurs types d'immunoglobulines en très faibles quantités dans la salive. Mais les IgA sécrétées sont très majoritaires.

Plus résistantes au milieu buccal, elles participent à neutraliser les toxines, virus et protéases bactériennes. Elles peuvent empêcher les bactéries de se fixer sur les muqueuses. Elles activent la voie alterne du complément.

1.6.3. Les enzymes de la salive

La production d'enzymes par les glandes salivaires est en lien avec les fonctions de la cavité buccale, première étape de la digestion, régulation de l'augmentation exponentielle du nombre de bactéries.

L'amylase salivaire ou alpha amylase catalyse l'hydrolyse de la liaison alpha 1-4 glucosidique de l'amidon. Son activité est maximale dans la bouche, elle est assez résistante aux variations de température mais son activité s'arrête dans l'estomac où elle est progressivement détruite.

Les lipases dégradent les triglycérides, leur activité perdure dans l'estomac.

Les lactate déshydrogénases sont une famille d'enzymes de la glycolyse anaérobie présentes dans de nombreux tissus du corps. Dans la bouche on trouve 5 isoenzymes de LDH1 à LDH5.

La kallikréine catalyse la formation de kinine à partir de kininogène.

Les enzymes du système peroxydase constituent un mécanisme de défense non spécifique de la salive en formant des composés fortement oxydants.

Le lysozyme est un enzyme qui coupe la liaison beta 1-4 glycosidique de la paroi des bactéries gram+.

Les petites molécules azotées telles que l'urée, la créatinine, l'acide urique et les acides aminés. Présentes dans la salive en rapport avec leur concentration sérique. Pour observer une corrélation

maximale entre la concentration salivaire de ces molécules et leur concentration plasmatique il convient de la mesurer sur une salive pure à l'ostium d'une glande salivaire pour éviter la variabilité de la composition de la salive totale.

1.7. Les lipides de la salive

Ils sont présents à hauteur de 20 à 30 mg/litre de salive totale.

On retrouve des acides gras libres ou fixés au glycérol (triglycérides mais également mono ou diglycérides) du cholestérol (ainsi que des dérivés stéroïdes), des glycolipides et phospholipides.

Certains lipides salivaires pourraient gêner les bactéries lors de leur phase d'adsorption sur l'émail.

1.8. Les glucides de la salive

Leur présence est due à la glycosialie, sécrétion de glucose par les glandes salivaires, de l'ordre de quelques mg/litre de salive, à l'alimentation et aux glycoprotéines salivaires ou d'origine bactérienne.

Le type de sucre est en relation avec le risque carieux individuel.

1.9. Les hormones dans la salive

On retrouve de nombreuses hormones dans la salive. Elles sont présentes à très faibles concentrations.

Pour les hormones qui circulent librement leur concentration dans la salive est dépendante de leur concentration plasmatique, c'est le cas des hormones stéroïdiennes. Pour les hormones qui circulent liées aux protéines leur concentration salivaire n'est pas le reflet de leur concentration plasmatique mais dépend du débit salivaire et du degré de passage au travers des jonctions cellulaires.

1.10. Les ions

On retrouve dans la salive les mêmes ions que dans les autres fluides biologiques :

- Sodium.
- Potassium.
- Calcium.
- Chlorure.
- Hydrogénocarbonate.
- Phosphates

Mais également en plus faible quantité :

- Zinc.
- Cuivre.
- Fer
- Autres

La salive est fortement hypotonique et la concentration en chacun de ces ions est variable en fonction des conditions de sécrétion.

2 : Panorama des substances prélevées

2.1. Recherche bibliographique

Nous avons conduit une recherche bibliographique via la base de données PubMed, avec l'équation suivante :

("legal medicine"[MeSH Terms] OR "legal medicine"[Title] OR "criminal medicine"[Title] OR "forensic"[MeSH Terms] OR "forensic"[Title] OR "forensic science"[MeSH Terms] OR "forensic science"[Title] OR "forensic odontology"[Title] OR "forensic dentistry"[MeSH Terms] OR "forensic toxicology"[MeSH Terms] OR "forensic toxicology"[Title] OR "forensic genetics"[MeSH Terms] OR "forensic genetics"[Title] OR "forensic dna"[Title] OR "forensic identification"[Title] OR "forensic sample"[Title] OR "forensic samples"[Title] OR "forensic test"[Title] OR "forensic tests"[Title] OR "forensic purpose"[Title] OR "forensic purposes"[Title] OR "drug testing"[Title]) AND ("saliva"[Title] OR "saliva screening"[Title] OR "saliva screening"[Title] OR "saliva diagnostic"[Title] OR "saliva diagnostics"[Title] OR "saliva composition"[Title] OR "saliva stain"[Title] OR "saliva stains"[Title] OR "saliva test"[Title] OR "saliva biomarker"[Title] OR "saliva biomarkers"[Title] OR "salivary"[Title] OR "alpha amylases, salivary"[MeSH Terms] OR "salivary amylases"[Title] OR "salivary amylase"[Title] OR "salivary biomarker"[Title] OR "salivary biomarkers"[Title] OR "salivary test"[Title] OR "salivary tests"[Title] OR "salivary trace"[Title] OR "salivary traces"[Title] OR "salivary profile"[Title] OR "salivary protein"[Title] OR "salivary proteins"[Title] OR "salivary proteome"[Title] OR "oral fluid"[Title] OR "oral secretion"[Title])

Avec cette équation nous obtenons 136 résultats.

En appliquant les filtres de langues (français et anglais) puis le filtre « humain » nous réduisons ce nombre à 125 puis à 113

Pour des raisons de propriétés intellectuelles 25 articles n'ont pas pu être obtenus en texte intégral, malgré des recoupements avec le moteur de recherche Google Scholar.

Après un examen rapide des 113 documents et de leur thématique nous les avons classés en deux catégories :

- Ceux qui ont rapport aux tests salivaires de dépistage de médicaments ou de stupéfiants, en particulier au volant.
- Ceux qui ont rapport aux techniques d'identification par la salive et à son exploitation dans la caractérisation d'un individu.

Nous proposons donc en premier lieu de nous consacrer aux tests salivaires de détection et de dosage des produits stupéfiants, des procédures de collecte aux tests de dosage en laboratoire puis de nous

pencher sur l'utilisation de la salive comme moyen de caractériser l'individu et d'aider lors d'une enquête de police.

Nous traiterons donc en premier lieu la détection de drogues ou produits stupéfiants au volant (driving under the influence of drugs DUID).

2.2. Les substances recherchées

En France et dans le monde les chiffres sont assez alarmants, dans plus de 15 % des accidents de la voie publique ayant causé des blessures physiques ou des décès, l'un des conducteurs a été testé sous l'emprise de produits stupéfiants susceptibles d'affaiblir son jugement et sa réactivité. En France ce chiffre est à prendre avec prudence : en effet les mêmes études et les mêmes rapports² qui conduisent à ce résultat montrent également que peu de conducteurs accidentés sont effectivement testés pour ces produits. Les causes de ce manque de dépistage ne sont pas énoncées clairement mais pourraient gonfler artificiellement ce chiffre et constituer un biais de sélection. (Par exemple si les policiers ne testent que des personnes qui semblent déjà suspectes). Un contrôle en France peut être réalisé en cas d'infraction au code de la route, d'accident de la voie publique sans blessé ou en cas de suspicion d'usage de produits stupéfiants. Cette loi peut également augmenter virtuellement les estimations du nombre de conducteurs conduisant sous l'emprise de stupéfiants en créant, là encore, un biais de sélection.³

Tout d'abord intéressons-nous aux principales substances recherchées. Il ne s'agit pas là de faire un inventaire exhaustif de toutes les drogues et de tout ce dont un humain peut abuser.

2.2.1. Le cannabis, le delta 9 tétrahydrocannabinol (THC) ⁴

Le cannabis est la drogue illicite la plus utilisée dans le monde entier, considéré comme une drogue douce, 48 % des moins de 17 ans ont déjà essayé le cannabis.

Le principal constituant psychoactif du cannabis est le delta-9-tétrahydrocannabinol (THC). Le cannabis provoque un effet dépressif sur le système nerveux central avec pour symptômes, de manière non exhaustive : baisse de la coordination, augmentation du temps de réaction et concentration réduite. La consommation de cannabis est un enjeu de sécurité routière et n'est pas détecté par le traditionnel

² Observatoire français des drogues et toxicomanies et Pousset, *Drogues et addictions, données essentielles*.

³ Arrêté du 13 décembre 2016 fixant les modalités du dépistage des substances témoignant de l'usage de stupéfiants, et des analyses et examens prévus par le code de la route et abrogeant l'arrêté du 5 septembre 2001 modifié fixant les modalités du dépistage des substances témoignant de l'usage de stupéfiants, et des analyses et examens prévus par le code de la route.

⁴ Observatoire européen des drogues et des toxicomanies, « Fiches drogues ».

éthylomètre. Il est important d'avoir une méthode de détection sensible et précise pour déterminer si quelqu'un est sous l'influence du THC, compatible avec un contrôle routier par la police.

Le cannabis peut être fumé et c'est son usage principal avec ou sans tabac sous forme de cigarette plus couramment appelées joint ou pétard par les consommateurs, mais aussi à l'aide d'une pipe ou d'autres appareils à eau tels que les bangs sur le même principe de combustion de la plante ou de la résine. D'autres usages sont toutefois retrouvés comme l'infusion dans du lait, la macération dans de l'alcool, sous forme d'huile absorbable sous la langue... il se développe une dernière méthode pour ceux que l'utilisation de tabac ne séduit pas : l'extraction à la vapeur. Les appareils utilisés ne sont pas spécifiques à cet usage bien sûr et sont vendus de façon légale.

Le Volcano, (cf. figure 1), est un inhalateur en vente libre, qui n'est pas destiné à consommer du cannabis. Mais il est fourni avec un petit moulin (en plastique orange sur la photo) très utile pour broyer les fleurs de cannabis et en extraire le pollen.

Figure 1 : Volcano



Source : Voclano Vape, 2018

Comme vu précédemment il est très avantageux d'utiliser la salive pour des tests rapides comme pendant un contrôle de police. Réalisable devant témoin, non invasive et avec une fenêtre de détection plus courte.

Le cannabis provoque toutefois un effet de bouche sèche rendant parfois la collecte de salive plus compliquée. Du fait de la tension de surface de la salive il arrive aussi que celle-ci se mette à mousser, le volume recueilli est alors composé principalement d'air, le volume de liquide requis pour un dosage précis n'est alors plus récupéré. D'où l'utilisation de techniques permettant un maximum de précision avec un volume minimal. C'est d'autant plus vrai si le même prélèvement est utilisé pour les deux tests d'affilée (test et confirmation).

En raison de la variété des méthodes de collecte de la salive, de l'utilisation du même échantillon pour la détection et la confirmation et des volumes irréguliers, les méthodes d'analyse confirmatoires doivent être adaptées à l'utilisation de solutions diluées et aux faibles concentrations.

Il existe un certain nombre de méthodes de confirmation publiées pour la détection du THC dans la salive par chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse (GC-MS) ou chromatographie liquide-spectrométrie de masse (LC-MS). Beaucoup de ces méthodes utilisent un grand volume de liquide oral (0,5-1 mL) pour atteindre une sensibilité élevée ou nécessitent un long temps d'analyse.

La stabilité du THC dans la salive est également un élément à prendre en compte lorsque les étapes de détection et de confirmation/dosage ne se déroulent pas sur le même site.

2.2.2. Les opiacés

Les produits opiacés sont des dérivés de l'opium obtenus par la chimie. L'opium est issu du pavot *papaver somniferum*.

Les opiacés sont utilisés très fréquemment en médecine à but antalgique central.

Leur structure est proche de celle de la morphine. Cette famille comprend la morphine, l'héroïne, la codéine, le tramadol, oxycodone et méthadone pour s'arrêter aux plus connus. Nombre de ces molécules sont tout à fait légales dans les pays de l'UE et sont des médicaments.

Les opiacés ont un effet analgésique dose dépendant plus ou moins marqué selon les molécules. Ils sont dépresseurs du système respiratoire. Selon la dose ils peuvent provoquer sédation ou excitation.

Il est en effet mentionné sur la notice des médicaments opiacés : « En raison de la baisse de vigilance induite par ce médicament, l'attention est attirée sur les risques liés à la conduite d'un véhicule et à l'utilisation d'une machine. » En France il est donc déconseillé, mais pas interdit, à une personne de consommer des médicaments opiacés et de conduire un véhicule.

On rappellera par ailleurs que certains opiacés sont injectables en intra veineuse, c'est le cas de l'héroïne. Le partage des seringues entre les toxicomanes les met en situation d'exposition particulière aux maladies transmissibles par le sang.

2.2.3. La cocaïne

La cocaïne est une substance naturelle extraite directement de la feuille de coca (*Erythroxylon coca*) et originaire d'Amérique du sud. La cocaïne a un effet stimulant du système nerveux et est utilisée comme tel depuis fort longtemps puisque les peuples d'Amérique du sud l'utilisaient déjà à l'époque précolombienne en mâchant les feuilles de coca.

Du point de vue chimique la molécule est très proche du crack, celui-ci se présentant sous forme basique. Dénommée parfois ester méthylique de benzoylecgonine ou (1R,2R,3S,5S)-3-(benzoyloxy)-8-méthyl-8-azabicyclo[3.2.1]octane-2-carboxylate de méthyle en dénomination chimique internationale.

La cocaïne se présente généralement sous forme de poudre blanche, le crack se présente lui sous forme de cailloux, de petits amas.

La cocaïne est en général « sniffée » c'est-à-dire aspirée par le nez et absorbée par la muqueuse des fosses nasales. On rapporte également qu'elle peut être ingérée mais perd alors en efficacité du fait de son hydrolyse par les enzymes intestinales ou injectée. Le crack quant à lui est une forma à fumer. La cocaïne a un effet stimulant sur le système nerveux central et augmente le nombre de transmetteurs dans les synapses dopaminergiques et noradrénergiques. Elle induit une très forte dépendance psychologique assez rapidement. La stimulation du système nerveux et la sensation de puissance induits par la cocaïne rendent les consommateurs dangereux pour leur environnement et pour eux même.

SOS addiction rapporte que plus de 5 % des adultes ont déjà pris de la cocaïne et que 1.1 % en prennent de manière régulière. L'observatoire européen des drogues et toxicomanies rapporte une moyenne européenne des 15-35 ans autour de 6 % ayant déjà consommé de la cocaïne et 1.9 % qui en auraient consommé au cours de l'année.

2.2.4. Les amphétamines

Les amphétamines font partie des drogues de synthèse. Principalement stimulantes du système nerveux elles possèdent en outre des propriétés hallucinogènes. Leurs propriétés thérapeutiques sont très limitées. L'action des amphétamines se manifeste en augmentant l'activité des neurotransmetteurs noradrénergiques et dopaminergiques.

La famille des amphétamines est une grande famille et ne se limite pas à la méthylphénéthylamine (amphétamine) la diméthylphénéthylamine (methamphétamine) et la N-méthyl-1-(3,4-méthylènedioxyphényl)propane-2-amine (MDMA).

Ces molécules appartiennent à la famille des phénéthylamines. Existent sous deux formes énantiomères R et S n'ayant pas tout à fait le même effet, le S serait plus actif que le R.

Ces drogues prennent la forme de poudre blanche soluble dans l'eau. Souvent présentées en comprimés.

Les amphétamines provoquent la stimulation du système nerveux central, hypertension, tachycardie, une réduction de la fatigue du sommeil et de l'appétit. Elles accroissent la sociabilité et cet effet est variable selon les familles, ainsi cet effet est plus important pour la MDMA. La demie vie de ces substances varie entre 4 et 12 heures. Mais après leur effet principal elles provoquent un état d'asthénie qui peut s'accompagner d'anxiété, de dépression et d'irascibilité.

Les amphétamines peuvent provoquer paranoïa, agitation et confusion en cas de surdosage. L'intoxication pouvant entraîner des troubles cardiaques graves.

Les amphétamines peuvent être consommées en comprimés en prise per os ou peuvent être sniffées sous forme de poudre.

L'épidémiologie est assez compliquée à résumer en raison de la variété des molécules. Le choix de la molécule se fait selon l'effet recherché ainsi que la zone géographique. En Europe la prévalence moyenne des amphétamines se situerait vers 5.5%. 1.3% des jeunes européens auraient fait usage d'amphétamines au cours d'une année. En Europe la surveillance n'est pas séparée entre amphétamine et méthamphétamine.

2.2.5. Les médicaments

Dans cette catégorie nous pourrions retrouver les opiacés, la buprénorphine, les amphétamines le cannabis... en fait ces substances sont toutes actives et chacune bénéficie d'une communauté plus ou moins objective et rigoureuse qui souhaiterait la voir utiliser de manière thérapeutique...

Nous allons classer ici les substances reconnues en France comme thérapeutiques, avec une autorisation de mise sur le marché, prescrites et consommées pour leur effet thérapeutique et non pour des effets secondaires ou leur ressemblance ou effets proches d'une autre substance qui elle n'est pas un médicament. Ainsi nous ne ferons pas figurer les opiacés dans cette catégorie car ils ne sont pas consommés comme antalgiques par les amateurs mais pour leur proximité avec des substances interdites comme l'héroïne, la morphine et l'opium.

Dans cette catégorie nous retrouvons les benzodiazépines, barbituriques, pipérazines, antihistaminiques divers (pris en association avec de la codéine), somnifères, décontractants (nous

nous souvenons de feu le MYOLASTAN, une benzodiazépine...). Parmi toutes ces molécules nous retiendrons principalement les benzodiazépines qui sont les plus fréquemment testées.

2.2.6. Les substances oubliées

Nous pouvons citer les membres de la catégorie précédente et qui ne figurent pas dans la plupart des articles.

En France seules 4 familles de molécules sont ciblées : THC ; cocaïne et benzoylecgonine ; héroïne et morphine ; amphétamines et ecstasy.

D'autres drogues sont pourtant très courantes, dont font partie les anesthésiques comme la kétamine ou le GHB (car celui-ci commence à être pris de manière volontaire et non plus seulement afin de faciliter une agression, à caractère sexuel ou non).

On peut également mentionner les benzodiazépines, qui sont des dépresseurs du système nerveux central, induisant une somnolence et un effet anxiolytique de par la sensation de calme engendrée. Les benzodiazépines sont une grande famille dont les molécules auront un effet plus ou moins sédatif ou anxiolytique mais également des durées de vies différentes. Ces demies vies peuvent relativement longues allant jusqu'à 24 à 48 heures pour certains des produits. Des effets indésirables sur l'équilibre et la mémoire (notamment amnésies antérogrades) sont rapportés.

3 : Physiologie du passage dans la salive

La salive récoltée lors des tests salivaires est en fait la salive totale mentionnée précédemment. Le fluide oral ou salive totale n'est donc pas constitué que de salive produite directement par une glande salivaire. La salive totale contient les mêmes électrolytes que les autres fluides corporels, elle est hypotonique par rapport au plasma sanguin. Elle contient des protéines dont certaines enzymes de digestion à très faible concentrations. Sa composition n'est pas constante en raison du rythme circadien. Le pH de la salive est approximativement 6.8 et change en fonction du débit salivaire. Ce débit peut quant à lui changer en fonction de facteurs locaux (gout, mastication, acidité) ou centraux (émotion, souvenir). Mais peut aussi changer en fonction de l'état de santé ou de consommation de drogue ou médicaments.

Différents mécanismes pour l'incorporation de médicaments ou de drogues dans la salive sont supposés se produire : diffusion passive à travers une membrane, processus actifs contre le gradient de concentration, filtration à travers les pores dans une membrane et pinocytose. Néanmoins, la plupart des médicaments semblent être incorporés par un processus de diffusion passive simple qui dépendant de leurs propriétés physico-chimiques, le degré de liaison aux protéines plasmatiques ainsi que le pH du sang et de la salive.

Par conséquent, les médicaments lipophiles non ionisés peuvent traverser facilement la barrière entre le plasma et la salive, et leur concentration salivaire est donc dépendante de leur concentration libre dans le plasma sanguin.

Les faibles concentrations retrouvées de diazépam et autres benzodiazépines représentent un exemple valide de cette dépendance, puisque ces composés sont fortement liés aux protéines.

Les substances basiques, tels qu'amphétamines, cocaïne et opiacés, montrent généralement des concentrations salivaires relativement élevées par rapport au plasma sanguin. Des substances acides ont en revanche des concentrations plus faibles et plus variables dans la salive. Bien sûr lorsqu'on parle de pKa de la substance concernée, on doit alors penser au pH de la salive qui peut expliquer les différences entre les ratios théoriques et réels entre les concentrations plasmatiques et salivaires.

Le dépôt dans la cavité buccale lors de la prise, sans que les substances ne soient passées par le sang ni ne soient secrétées par la salive : Les concentrations de D9-tétrahydrocannabinol (THC) sont plus variables dans le liquide oral que dans le sang, probablement en raison du dépôt de THC dans la cavité buccale. On montre aujourd'hui qu'en fait, lors des mesures, la majeure partie du THC accessible aux tests salivaires provient des dépôts dans la cavité buccale plus que de la salive.

Cet effet est également observé pour d'autres médicaments, tels que la buprénorphine après administration sublinguale.

Le flux de salive est susceptible de changer la composition de cette dernière. L'acidité de la salive influe sur le ratio des concentrations salivaire et plasmatique, or le pH de la salive est lui-même influencé par son débit. Il sera donc très important de définir la procédure de collecte de la salive en fonction des objectifs qui justifient de faire le test. De nombreux pays appliquent la tolérance zéro avec les drogues au volant, il conviendrait alors d'utiliser la méthode qui obtient la concentration de drogue la plus élevée afin de réduire le nombre de faux négatifs. Un dosage de médicament dans la salive viserait lui à obtenir le ratio de concentrations salivaire et plasmatique le plus précis et reproductible possible. Ceci explique les variations de protocoles de collecte entre les études.

De grandes différences existent entre les différentes molécules concernant leurs ratios de concentrations plasmatique et salivaire.

Il est à noter que la contamination passive constitue une porte d'entrée possible vers la cavité buccale et donc vers la salive totale. Ce cas est bien distinct de la contamination de la salive par une prise orale d'un comprimé ou de fumée de cannabis. Il s'agit là d'une contamination par l'extérieur comme aux fumées de cannabis consommé par l'entourage ou lors d'un échange de salive entre deux individus dont un seul aurait consommé des substances illicites ou médicaments.⁵

Dans les deux cas ces possibilités devraient être prises en compte lors de l'interprétation du résultat d'un test pratiqué.

⁵ Øiestad et al., « Analyses of beverage remains in drug rape cases revealing drug residues : the possibility of contamination from drug concentrated oral fluid or oral cavity contained tablets ».

4 : Procédures de collecte et d'analyses

4.1. Les procédures de collecte

4.1.1. Les généralités

Il y a deux avantages majeurs à l'analyse des fluides buccaux. Tout d'abord, la concentration d'une substance dans la salive est reliée à la concentration plasmatique de cette substance et, par conséquent, aux effets pharmacologiques de cette substance. Deuxièmement, le recueil de la salive est fait de manière non invasive et simple et peut se réaliser sous surveillance étroite, si nécessaire, sans enfreindre la pudeur de la personne.

Cette dernière caractéristique rend la collecte d'échantillons facile à réaliser sur le terrain, ce qui est un avantage dans la recherche de conduite sous l'emprise de stupéfiants.

La collecte de l'échantillon est moins susceptible d'être altérée ou substituée en comparaison avec l'échantillonnage d'urine.

Un ensemble de méthodes est disponible pour le recueil de salive, avec ou sans stimulation, celles-ci comprennent le crachat, le drainage, l'aspiration et la collecte sur différents types de matériaux absorbants.

Cependant, il faut y prêter une attention car la concentration salivaire des différentes substances testées peut être affectée par la procédure de collecte utilisée. Par exemple frotter un écouvillon contre les muqueuses des joues et des gencives risquerait de récolter des traces ou des dépôts qui fausseraient la mesure de la concentration salivaire et donc l'issue du test.

4.1.2. La stimulation salivaire

Comme nous le verrons plus loin le volume de salive recueilli est un paramètre critique pour la reproductibilité des tests. Il est extrêmement facile de prélever de la salive. Mais dans un contexte de peur du gendarme associé à l'effet bouche sèche de certaines substances il peut devenir problématique d'en obtenir un volume d'environ 1ml.

Plusieurs techniques peuvent être utilisées pour stimuler la sécrétion salivaire, dont la plus simple implique des mouvements de la langue, de la joue ou de la lèvre. La stimulation peut sinon être faite mécaniquement en mâchant quelque chose comme de la cire de paraffine, Parafilm®, téflon, élastiques ou chewing gum.

Encore, une goutte de jus de citron ou de l'acide citrique placé dans la bouche pour fournir un stimulus gustatif pour la production de salive.

Après la stimulation, la salive peut alors être crachée, aspirée, absorbée ou tamponnée pour la collecte.

Attention cependant, cette stimulation de la production salivaire présente quelques inconvénients qui peuvent compromettre la précision du test.

On peut noter par exemple l'absorption de certains métabolites sur le support qui a servi à la mastication, ou le relargage de substances par le matériau et qui viendraient à perturber une spectrométrie ultérieure en générant du bruit de fond.

Il est possible que la composition biochimique de la salive soit modifiée par le processus stimulation, ceci pourrait affecter la concentration salivaire des différentes substances. L'acide citrique, par exemple, modifie le pH de la salive, ce qui peut modifier la concentration salivaire de certaines substances, il a été montré que l'on pouvait ainsi modifier les résultats de tests par immunomarquage. La stimulation acide quant à elle peut diminuer les concentrations de codéine, de méthamphétamine et de cocaïne dans la salive. Ceci est également à craindre lorsque l'on recherche des dépôts comme c'est le cas du THC où la quantité déposée dans la bouche lors de la prise est finie et risque donc d'être diluée dans plus de salive.

4.1.3. La collecte primaire de la salive

La salive non stimulée peut être collectée par méthode de drainage, qui est réalisée en une goutte dans un récipient, ou plus facilement obtenu en crachant, fournissant alors un échantillon de salive totale ou fluide oral. Cependant, la salive totale est relativement visqueuse et se pipette moins facilement que, par exemple, l'urine.

La collecte de la salive comme tout liquide biologique demande des précautions pour le personnel qui effectue le prélèvement.

L'échantillon est généralement collecté en utilisant soit un coton absorbant, qui est ensuite pressé ou mélangé dans un diluant (habituellement un tampon) pour le rendre moins visqueux et plus facile à analyser. Un volume minimum peut s'avérer nécessaire. Cependant, le volume d'échantillon collecté est souvent de moins de 1 ml, nous verrons ultérieurement les techniques permettant d'utiliser de très petits échantillons.

Le moyen de collecte primaire, la solution tampon et le récipient ou support utilisés lors du test sont uniques à chaque produit et à chaque marque. Certains écouvillons ou récipients ont montré qu'ils capturaient une partie des substances recherchées, de manière plus ou moins irréversible. Cela les

rend alors inaccessibles pour les tests en eux-mêmes. Ceci est particulièrement vrai lorsque l'échantillon est conservé pour test de confirmation en laboratoire. Comme chaque test est unique les taux de récupération changent pour chaque substance entre les différents tests. Les taux de récupération varient entre les tests et entre les études entre 40 % et 80 %. De manière générale plus la molécule ciblée est lipophile plus elle aura tendance à se déposer sur les parois du récipient en plastique. C'est l'un des rôles de la solution tampon de limiter ce phénomène. Cet aspect multifactoriel fait qu'aujourd'hui aucun système ne se montre vraiment supérieur aux autres. D'après une étude menée avec le dispositif Quantisial associé à extraction par acétate d'éthyle et hexane, chromatographie phase liquide et spectrométrie en tandem⁶ les taux de récupération aux limites de détection se trouvaient entre 50 et 120% selon les substances. Le 120% se trouvant dans les limites d'intervalle de confiance.

4.2. L'immunomarquage

La démarche de recherche des stupéfiants lors des contrôles routiers est assez contraignante, le test doit être réalisé en quelques minutes, être facile à manipuler par du personnel un peu limité. Mais surtout il doit fournir une information sur l'état immédiat du conducteur contrairement à un test réalisé au travail qui chercherait à vérifier la consommation sur un moyen à long terme. Le test doit aussi être extrêmement spécifique car dans certains pays où la tolérance zéro est de mise en matière de stupéfiants au volant et un second test de confirmation ne sera pas systématiquement réalisé.

Nous avons vu précédemment que la présence d'une substance dans la salive atteste d'une prise récente.

L'immunomarquage est une technique qui répond à ce cahier des charges. Leur sensibilité/spécificité sont réglables. Un trop grand nombre de faux positifs entraînerait beaucoup de tests de confirmation et de procédures en cas d'immobilisation du véhicule.

Ces tests ciblent une classe de molécules, ce qui signifie qu'ils ne font pas toujours la distinction entre différents métabolites et intermédiaires de dégradation. Ceci n'est pas forcément un défaut puisque cela permet de tester une grande variété de produits sur un même test.

Le dernier avantage de taille de ce type de tests est qu'il fonctionne très bien avec de faibles volumes de salive.

Aujourd'hui la plupart des tests salivaires de détection des stupéfiants sont de ce type.

⁶ Zancanaro et al., « Prescription and illicit psychoactive drugs in oral fluid-LC-MS/MS method development and analysis of samples from Brazilian drivers ».

En raison du faible pouvoir de discrimination des molécules d'une même famille les auteurs recommandent de systématiquement réaliser une confirmation en laboratoire afin de différencier les métabolites retrouvés.

4.3. Les tests en pratique

En tout premier rappelons les seuils de détection choisis en France.

Pour un test salivaire :

- S'agissant des cannabiniques :

9-tétrahydrocannabinol (THC) : 15 ng/ml de salive ;

- S'agissant des amphétaminiques :

Amphétamine : 50 ng/ml de salive ;

Métamphétamine : 50 ng/ml de salive ;

Méthylène dioxymétamphétamine (MDMA) : 50 ng/ml de salive ;

- S'agissant des cocaïniques :

Cocaïne ou benzoylecgonine : 10 ng/ml de salive ;

- S'agissant des opiacés :

Morphine : 10 ng/ml de salive ;

6 monoacétylmorphine : 10 ng/ml de salive.

Pour un test urinaire :

- S'agissant des cannabiniques :

Acide carboxylique du tétrahydrocannabinol (9 THCCOOH) : 50 ng/ml d'urine ;

- S'agissant des amphétaminiques :

Amphétamine : 1 000 ng/ml d'urine ;

Métamphétamine : 1 000 ng/ml d'urine ;

Méthylène dioxymétamphétamine (MDMA) : 1 000 ng/ml d'urine ;

- S'agissant des cocaïniques :

Cocaïne ou benzoylecgonine : 300 ng/ml d'urine ;

- S'agissant des opiacés :

Morphine : 300 ng/ml d'urine.⁷

Ces valeurs peuvent être vérifiées par une chromatographie associée à spectrométrie de masse sur le sang ou sur la salive. Sur demande de la personne contrôlée.

Comme vu précédemment la grande variabilité de la composition de la salive, les conditions de prélèvement, de stockage, la population cible de l'étude, les modalités de tests et des études menées sur ces tests rendent les résultats test par test assez variables. Nous avons donc compilé les résultats d'études sur un seul test avec des études comparant plusieurs tests. Dans ces dernières les tests sont comparés dans des conditions les plus proches possibles. Des irrégularités persistent toutefois et peuvent concerner la pratique des personnels, l'adaptation du test à la situation choisie.

Les modèles référencés :

- Dräger drug test 5000.
- Cozart DDS.
- Mavand Rapid STAT.
- Innovacon OrAlert.
- Drugwipe 5.
- BIOSENS Dynamic.
- OraLab 6.
- Oratect III

Dans les paragraphes suivants nous déterminerons les attentes par rapport à ces tests, leur précision et la confiance que l'on peut attribuer à leur résultat.

⁷ Arrêté du 13 décembre 2016 fixant les modalités du dépistage des substances témoignant de l'usage de stupéfiants, et des analyses et examens prévus par le code de la route et abrogeant l'arrêté du 5 septembre 2001 modifié fixant les modalités du dépistage des substances témoignant de l'usage de stupéfiants, et des analyses et examens prévus par le code de la route.

Tableau 1 : Sensibilité, spécificité, précision et valeurs de prédiction d'un certain nombre de tests.

Target Substance	Device	Cutoffs (ng/mL)	n	Sens. [†] (%)	Spec. (%)	Acc. (%)	Prev. (%)	PPV (%)	NPV (%)
Cocaine/benzoyllecgonine	DrugTest	20	137	50.0	99.2	94.9	8.8	93.2	90.1
	DDS	30	138	11.1	99.2	93.5	6.5	75.7	83.6
	RapidSTAT	12	133	27.3	97.5	91.7	8.3	70.7	86.0
	OrAlert	20	110	50.0	100	93.6	12.7	100	90.2
Opiates	DrugTest	20	137	84.1	91.8	86.7	64.2	22.2	99.5
	DDS	30	138	64.5	100	80.4	55.1	100	99.0
	RapidSTAT	25	133	76.5	96.1	84.2	60.9	35.6	99.3
	OrAlert	40	110	73.2	87.5	76.4	78.2	14.0	99.1
THC	DrugTest	5	137	80.8	95.5	92.0	24.8	98.0	64.2
	DDS	31	138	28.2	100	79.7	37.7	100	33.4
	RapidSTAT	15	133	43.3	88.3	78.2	22.5	91.2	36.0
	OrAlert	100	110	23.1	100	90.9	11.8	100	31.9
Amphetamines	DrugTest	50	137	75.0	100	98.5	5.8	100	94.2
	DDS	50	138	66.7	99.2	97.8	4.3	95.6	92.3
	RapidSTAT	25	133	16.7	96.9	93.2	4.5	56.6	82.5
	OrAlert	50	110	33.3	90.7	89.1	2.7	55.0	53.0

* The cutoffs mentioned are those claimed by the manufacturers for the different devices.

[†] Sens. = Sensitivity = TP/(TP + FN); Spec. = Specificity = TN/(TN + FP); Acc. = Accuracy = (TP + TN)/(TP + TN + FP + FN); Prev. = Prevalence = (TP + FN)/(number of subjects); PPV = Positive Predictive Value = (sens*prev)/(sens*prev + (1 - spec)(1 - prev)); and NPV = Negative Predictive Value = spec(1 - prev)/(spec(1 - prev) + prev(1 - sens)). TP = True Positive; TN = True Negative; FP = False Positive; and FN = False Negative.

Source: Vanstechelman et al., "Analytical evaluation of four on-site oral fluid drug testing devices", 2012

Tableau 2 : Résultats détaillés pour les amphétamines

Table III. Detailed Amphetamine Test Results				
Rapid Stat	Oral Fluid		Serum	
	Amphetamine (ng)	MDMA (ng)	Amphetamine (ng/mL)	MDMA (ng/mL)
+	863	0	No sample material	
+	161	0	No sample material	
+	35	0	111	0
+	34	0	No sample material	
+	24	0	126	0
+	21	0	No sample material	
+	21	0	279	0
+	19	23	No sample material	
+	12	(7) [†]	No sample material	
+	12	0	133	0
+	(9)	0	159	15
+	(8)	(6)	50	50
+	(7)	(8)	No sample material	
+	(2)	(6)	No sample material	
+	(2)	0	226	0
+	0	52	No sample material	
+	0	0	No sample material	
+	0	0	0	0
+	0	0	No sample material	
+	No sample material		150	0
+	No sample material		11	0
+	No sample material		0	0
+	No sample material		0	0
-	(4)	0	No sample material	

* All other samples were negative with Rapid Stat and GC-MS in oral fluid and/or serum.
[†] Approximate values below the LLOQ are given in parentheses.

Source : Röhrich et al., "Detection of Δ^9 -tetrahydrocannabinol and amphetamine-type stimulants in oral fluid using the rapid stat™ point-of-collection drug-testing device", 2010

Tableau 3 : Résultats détaillés pour le THC

Table V. Detailed THC Test Results				
Rapid Stat	Oral Fluid THC (ng)	Serum		
		THC (ng/mL)	THC-OH (ng/mL)	THC-COOH (ng/mL)
+	76.0		No sample material	
+	50.2	12.5	4.7	187
+	37.9	33.6	11.4	297
+	37.1		No sample material	
+	24.8		No sample material	
+	9.6	0.9	0.0	17
+	7.9		No sample material	
+	4.8	0.9	0.0	13
+	4.6	5.0	2.2	92
+	4.5		No sample material	
+	2.4		No sample material	
+	2.1	12.9	6.3	134
+	2.0	1.8	0.5	46
+	(1.0) [†]		No sample material	
+	(0.7)		No sample material	
+	(0.6)	5.3	1.7	240
+	(0.5)	1.7	0.8	8
+	0	7.6	3.3	150
+	0		No sample material	
+	0	0	0	7
+	0	0	0	0
+	0	0	0	0
+	0	7.1	3.7	104
+	0	2.5	0.6	24
+	0	0	0	0
+	0	0	0	0
+	0		No sample material	
+	0		No sample material	
+	0		No sample material	
+	0	0	0	1
+	No sample material	15.2	6.3	268
+	No sample material	0	0	0
+	No sample material	2.9	1.3	67
+	No sample material	0	0	9
+	No sample material	4.6	1.2	40
-	5.0	4.6	1.9	75
-	4.8		No sample material	
-	(1.3)		No sample material	
-	0	0	0	3
-	0	0	0	32
-	0	1.3	0.6	11
-	0	1.6	0.6	8
-	0	2.9	1.2	41
-	0	11.7	5.9	274
-	0	0	0	41
-	0	0	0	41
-	No sample material	1.2	0.6	29
-	No sample material	0	0	7

* All other samples were negative with Rapid Stat and GC-MS in oral fluid and/or serum.
[†] Approximate values below the LLOQ are given in parentheses.

Source : Röhrich et al., « Detection of Δ^9 -tetrahydrocannabinol and amphetamine-type stimulants in oral fluid using the rapid stat™ point-of-collection drug-testing device », 2010

4.3.1. La sensibilité

La sensibilité est la probabilité que le résultat d'un test soit positif sachant qu'il est réellement positif et que le résultat est donc supposé être positif. Cela s'écrit :

$$\text{Vrais positifs} / (\text{vrais positifs} + \text{faux négatifs})$$

Les valeurs varient pour chaque substance, pour chaque étude et chaque test. Nous ne pouvons bien sûr pas faire le calcul de valeurs moyenne pour chaque test sur les différentes études qui le concernent en raison de leur nombre variable. Toutefois les tableaux 1, 2 et 3 nous montre que selon les auteurs

la sensibilité des tests peut descendre jusqu'à 11 %, avec une majorité de résultats au-dessus de 50 %. Les résultats les plus favorables iraient jusqu'à 100 %.

D'aussi importantes variations sont dues aux conditions dans lesquelles ces tests sont mis à l'épreuve. Certaines études sont menées sur des conducteurs, d'autres sur des patients toxicomanes en cours de suivi ou encore dans des services d'urgences. Dans ces conditions la prévalence de la consommation de stupéfiants, ainsi que les quantités et fréquences de consommation varient beaucoup.

On sait qu'il est plus aisé d'obtenir une sensibilité élevée dans un échantillon avec une forte prévalence. De même des toxicomanes ne font pas attention à leur consommation alors que des automobilistes auront globalement tendance à faire attention et à attendre avant de prendre le volant, donnant dans une majorité de cas des taux très faibles et en phase de décroissance.⁸

4.3.2. La spécificité

La spécificité est la probabilité que le résultat du test soit négatif sachant qu'il est réellement négatif et que le résultat attendu du test est donc négatif. Cela s'écrit :

$$\text{Vrais négatifs} / (\text{vrais négatifs} + \text{faux positifs})$$

La spécificité est le paramètre le plus important pour ce type de test. Leur fonction est de tester systématiquement des conducteurs dont l'immense majorité n'a rien consommé d'illégal. Un test qui manque de spécificité donnerait plus de faux positifs que de vrais. Le résultat ne doit pas être contestable. Les valeurs de spécificité fluctuent en général autour de 90 % à 95 %, mais descendent selon les substances et les études sous les 75 %.

De la même façon que la sensibilité la spécificité est sujette aux conditions d'étude. Une prévalence faible dans l'échantillon augmente la spécificité.⁹

4.3.3. Précision, valeurs prédictives positive et négative

De ces trois valeurs seule la précision (accuracy) est un paramètre découlant directement des résultats :

$$(\text{Vrais positifs} + \text{vrais négatifs})/\text{total}$$

On peut relier la précision à la sensibilité et à la spécificité par la prévalence :

$$\text{Sensibilité} = \text{vrais positifs}/(\text{vrais positifs} + \text{faux négatifs})$$

$$\text{Mais } (\text{vrais positifs} + \text{faux négatifs}) = \text{prévalence} * \text{total des effectifs de l'échantillon}$$

$$\text{Sensibilité} * \text{prévalence} = \text{vrais positifs} / \text{total effectifs}$$

⁸ Psoter et al., « Biostatistics primer for the radiologist ».

⁹ Blencowe et al., « An analytical evaluation of eight on-site oral fluid drug screening devices using laboratory confirmation results from oral fluid ».

Spécificité=vrais négatifs/(vrais négatifs + faux positifs)

De la même façon (vrais négatifs + faux positifs)=(1-prevalence)*total des effectifs

Spécificité*(1-prevalence) =vrais négatifs/total effectif

$$a/(c+d)+b/(c+d)=(a+b)/(c+d)$$

Nous avons donc [(sensibilité*prévalence) +(spécificité * (1- prévalence))] /effectifs totaux=précision

La précision n'est donc pas une variable indépendante de l'échantillon puisqu'elle est liée à la prévalence. Il est alors possible de « renforcer »la précision d'un test en le réalisant sur certaines populations. Ce paramètre ne semble donc pas pouvoir remplacer les deux précédents et tous doivent être observés simultanément.

Les valeurs de prédiction positive et négative (positive/negative predictive value) (cf. tableau 4) sont les proportions de vrais positifs parmi tous les positifs ou de vrais négatifs parmi tous les négatifs.

Tableau 4 : Tableau récapitulatif des relations entre les identités mathématiques utilisées en biostatistiques

		Condition (as determined by "Gold standard")			
		Condition positive	Condition negative	Prevalence = $\frac{\Sigma \text{ Condition positive}}{\Sigma \text{ Total population}}$	
Test outcome	Test outcome positive	True positive	False positive (Type I error)	Positive predictive value (PPV, Precision) = $\frac{\Sigma \text{ True positive}}{\Sigma \text{ Test outcome positive}}$	False discovery rate (FDR) = $\frac{\Sigma \text{ False positive}}{\Sigma \text{ Test outcome positive}}$
	Test outcome negative	False negative (Type II error)	True negative	False omission rate (FOR) = $\frac{\Sigma \text{ False negative}}{\Sigma \text{ Test outcome negative}}$	Negative predictive value (NPV) = $\frac{\Sigma \text{ True negative}}{\Sigma \text{ Test outcome negative}}$
	Positive likelihood ratio (LR+) = $\frac{\text{TPR}}{\text{FPR}}$	True positive rate (TPR, Sensitivity, Recall) = $\frac{\Sigma \text{ True positive}}{\Sigma \text{ Condition positive}}$	False positive rate (FPR, Fall-out) = $\frac{\Sigma \text{ False positive}}{\Sigma \text{ Condition negative}}$	Accuracy (ACC) = $\frac{\Sigma \text{ True positive} + \Sigma \text{ True negative}}{\Sigma \text{ Total population}}$	
	Negative likelihood ratio (LR-) = $\frac{\text{FNR}}{\text{TNR}}$	False negative rate (FNR) = $\frac{\Sigma \text{ False negative}}{\Sigma \text{ Condition positive}}$	True negative rate (TNR, Specificity, SPC) = $\frac{\Sigma \text{ True negative}}{\Sigma \text{ Condition negative}}$		
	Diagnostic odds ratio (DOR) = $\frac{\text{LR+}}{\text{LR-}}$				

Source : Liberman, « Archive for language and biology », 2014

La complexité de la précision et des valeurs prédictives positive et négative vient du fait qu'on ne peut pas les calculer directement à partir de la sensibilité ou de la spécificité et que la plupart des auteurs ne les mentionnent pas, ou ne les mentionnent pas toutes.

Il est déjà malaisé de trouver de la reproductibilité dans les études sur un sujet aussi récent, de telles variables rajoutent encore de la complexité et ne doivent pas servir à masquer la sensibilité et la spécificité qui suffisent en soi à la plupart des calculs. Nous nous sommes donc arrêtés aux valeurs de sensibilité, spécificité et précision.

4.3.4. Valeurs cibles

Le rapport ROSITA pose comme valeurs cibles sensibilité et spécificité supérieures à 90 % avec une précision supérieure à 95 %.

Par rapport à ces paramètres aucun des tests passés en revue ne tient de tels objectifs. La spécificité de 90 % est régulièrement atteinte et va même jusqu'à 99 %. Mais ce sont précision et spécificité qui ne répondent pas aux critères ROSITA.¹⁰

4.4. Chromatographie phase liquide, gazeuse et spectrométrie de masse^{11 12 13}

Lorsqu'il s'agit d'analyser avec une très grande précision la composition d'une substance et d'en déterminer la présence ou l'absence, la spectrométrie de masse se présente comme la meilleure technique.

Afin d'augmenter le ratio des pics sur le bruit de fond et parce que les concentrations de certaines substances se trouvent en dessous du ng/ml la spectrométrie est associée à la chromatographie en 2D qui permet de concentrer la substance et donc augmenter la sensibilité et la spécificité du test. En premier lieu parce qu'elle concentre la molécule recherchée, mais aussi parce qu'elle écarte des interférences d'autres substances et fait donc baisser le bruit de fond. On peut alors détecter des substances entre 1 et 10 ng/ml.

Lorsque les concentrations sont encore plus faibles on dispose d'une autre technique : la spectrométrie de masse en tandem. En répétant la spectrométrie de masse sur les produits de la première le seuil de détection peut être abaissé à 10 pg (10⁻¹¹g/ml).¹⁴

La spectrométrie de masse associée à un filtre magnétique ou *ion trap spectrometry* ou une spectrométrie avec quadripôles.¹⁵

¹⁰ Verstraete, « Roadside testing assessment ».

¹¹ Anzillotti et al., « Cannabinoids determination in oral fluid by SPME-GC/MS and UHPLC-MS/MS and its application on suspected drivers ».

¹² Choi et al., « Simultaneous analysis of psychotropic phenylalkylamines in oral fluid by GC-MS with automated SPE and its application to legal cases ».

¹³ Choi et al., « Analysis of cannabis in oral fluid specimens by GC-MS with automatic SPE ».

¹⁴ Teixeira et al., « Validated method for the simultaneous determination of δ^9 -thc and δ^9 -thc-cooh in oral fluid, urine and whole blood using solid-phase extraction and liquid chromatography–mass spectrometry with electrospray ionization ».

¹⁵ Poetzsch et al., « Development of a high-speed MALDI-triple quadrupole mass spectrometric method for the determination of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) in oral fluid : high-speed MALDI-triple quadrupole mass spectrometric method for MDMA ».

Pour faire la liaison entre tous ces tests salivaires et les enquêtes policières nous nous tournerons vers une étude ¹⁶ qui rapporte que dans des cas d'agressions assistées par de la drogue (drug assisted rape), les techniques de chromatographie phase gazeuse spectrométrie de masse en tandem pouvaient trouver des traces de ces produits dans d'autres verres que celui qui a véritablement servi de vecteur pour faire parvenir la substance à la victime (à noter toutefois qu'il n'est pas nécessaire que le vecteur d'entrée soit un verre). Les tests d'immunomarquages ne sont en revanche pas capables de détecter pour les quantités concernées avec leurs seuils de détection. Les verres incriminés auraient été contaminés par la salive de la personne ayant bu dedans. Cette hypothèse étant vérifiée par le fait que la dose retrouvée par la mesure est dépendante de la quantité introduite dans la bouche des volontaires qui ont bu dans les verres. Ces résultats vont jusqu'à multiplier les taux retrouvés par 10 lorsque le comprimé de diazépam est réduit en poudre avant d'être placé dans la bouche. Les quantités de drogue retrouvées dans des verres exposés à de la salive qui contient la substance en question sont extrêmement faibles. Il semble donc tout à fait possible de faire la différence entre un verre qui a servi à droguer une victime et un verre qui a été contaminé par de la salive contenant de la drogue. Ces résultats doivent toutefois être gardés à l'esprit. Nous n'avons pas trouvé d'autres références à des cas d'empoisonnement

¹⁶ Øiestad et al., « Analyses of beverage remains in drug rape cases revealing drug residues : the possibility of contamination from drug concentrated oral fluid or oral cavity contained tablets ».

5 : Trouver, identifier, prélever de la salive

Dans une enquête criminelle les preuves ou éléments que peut apporter la salive sont nombreux et seront traités plus loin. Il est donc capital dans un premier temps de repérer des traces de salive, de vérifier qu'il s'agit bien de salive et de la récupérer de la manière la plus efficace possible.

Comparativement à d'autres fluides biologiques comme le sang que l'on reconnaît de loin... la salive est incolore, inodore, elle est présente en faibles quantités et elle est constituée presque entièrement d'eau, contient très peu d'ions et encore moins de protéines. C'est un défi pour les personnels chargés du recueil des indices de la différencier de l'eau et une fois sèche elle ne laisse presque aucune trace. Il est rapporté que la salive est la première source de traces d'ADN dans les enquêtes au Royaume Uni.¹⁷

Les sources de salive sur une scène de crime sont de deux types :

- Les objets entrés en contact avec la bouche tels que les mégots de cigarette ou gobelets abandonnés sur les lieux.
- Les traces directes de crachat, de léchage, morsure, contact oral (sexuel)...¹⁸ directement sur la victime ou sur l'environnement direct, lit, sol vêtements...

La salive se détecte de plusieurs façons

- Son activité enzymatique
- Par fluorescence
- Sous la lumière ultraviolette (UV) à 450nm (mais cette technique n'est pas spécifique à la salive et celle-ci est beaucoup moins visible que les autres fluides biologiques)
- D'autres tests que nous ne pouvons classer dans ces catégories existent et nous en parlerons dans une partie à part.

5.1. Les tests enzymatiques¹⁹

Ces tests reposent le plus souvent sur l'activité de l'amylase salivaire. Le plus simple étant alors d'utiliser un amidon modifié pour libérer des colorants lorsqu'il est hydrolysé. Le test PHADEBAS repose sur ce principe. Le colorant fixé de manière covalente à l'amidon insoluble devient bleu lorsqu'il

¹⁷ Wornes, Speers, et Murakami, « The evaluation and validation of PHADEBAS® paper as a presumptive screening tool for saliva on forensic exhibits ».

¹⁸ Kamodyová et al., « Prevalence and persistence of male DNA identified in mixed saliva samples after intense kissing ».

¹⁹ Ohta et Ohmura, « Reducing of salivary α -amylase inhibition by using bovine serum albumin and calcium chloride for forensic saliva screening ».

est libéré. Le colorant est alors visualisé en appliquant un papier sur la zone testée, le colorant va se transférer sur le papier et révéler la tache de salive.

Le test n'est pas spécifique à la salive et n'importe quel fluide ou support qui présente une activité d'hydrolyse de l'amidon donne un résultat positif.

D'après une étude menée sur le test PHADEBAS celui-ci s'avère d'une bonne efficacité :

Sa sensibilité est bonne et le test est capable de détecter en quelques dizaines de minutes de la salive même si celle-ci est diluée jusqu'à cinq cent fois. Toutefois le test est plus long à produire un résultat positif et celui-ci est beaucoup plus discret au bout de 40 minutes.

Le test supporte très bien les variations de température puisque les résultats sont semblables à température ambiante (23 degrés) et à 37 degrés (Celsius).

Niveau spécificité, lorsque l'on compare les résultats du test à d'autres fluides biologiques (sang, mucus nasal, sueur, larmes, urine, fèces, sperme et sécrétion vaginale à 37 degrés, il ressort :

- Les fèces, le mucus nasal, la sueur, l'urine et le sperme montrent une activité amylase modérée mais comparable à celle d'une salive diluée.
- Le sang, les larmes et les sécrétions vaginales ne montrent pas d'activité amylase détectable par ce test.

Le test ne présente pas de spécificité à la salive, seule la vitesse de la réaction sur de la salive pure non diluée ou à faible température se différencierait de celle obtenue avec d'autres fluides.

Parfois la salive peut être mélangée à d'autres fluides biologiques. Lorsque l'on mélange dans une tache de la salive avec d'autres fluides biologiques selon différentes teneurs en salive on observe les interférences de chaque fluide au test.

Quand la salive est mélangée avec du sang ou du sperme le résultat du test est moins fort et il faut plus de temps comparativement à la concentration de salive du mélange (par exemple si on l'avait simplement diluée dans l'eau).

Lorsque la salive est mélangée à de l'urine le résultat du test ne diffère pas du témoin (salive diluée dans l'eau).

Le mélange salive et sécrétions vaginales donnerait des résultats très variables.

De ces résultats nous pouvons déduire que ce type de test permet d'identifier l'activité amylase, mais que son rendement baisse fortement si la salive est mélangée à un autre fluide biologique. Nous précisons que dans l'étude citée les ratios de mélange variaient entre 3/1 et 1/3... des concentrations de salive qui restent assez élevées, et déjà les résultats du test baissent. Ce test permettait de détecter une salive diluée 500 fois. Donnait un résultat faiblement positif pour plusieurs fluides biologiques comparable à de la salive très diluée. Il devient donc rapidement difficile de clairement identifier de la salive lorsque celle-ci est mélangée, spécialement lorsqu'elle est en faible quantité.

Par rapport à la porosité du support : la porosité du support réduit l'efficacité du test, mais dans de faibles proportions. Le résultat serait simplement un peu plus long à obtenir et moins fort dans les cas les plus poreux.

La conservation de l'activité amylase de la salive varie lorsque celle-ci est séchée puis réhydratée pour le test. Les valeurs rapportées sont une réduction à 17% sur 24 heures jusqu'à 1% après plusieurs dizaines de jours.²⁰

5.2. Les tests d'immunomarquage²¹

Ils sont ciblés sur des protéines salivaires et utilisent des anticorps de souris. Ces tests détectent des concentrations de salive encore plus faibles. C'est en effet le premier prérequis d'un nouveau test, il doit apporter une innovation ou un plus, mais avant tout il ne doit pas faire moins bien dans sa fonction principale. En effet les tests basés sur les anticorps sont environ dix fois plus sensibles que le test Phadebas paper selon les études. De grandes variations existent entre les études selon que les échantillons de salive utilisés sont frais ou non, séchés ou non et du fait des variations de composition de la salive en fonction de l'heure de la journée, de la stimulation du débit et tous les autres paramètres déjà cités ci avant.

Les tests enzymatiques ne sont pas spécifiques à la salive, ils montrent le résultat de la réaction enzymatique correspondante. Les tests immunologiques sont spécifiques à une molécule cible.

Comme vu précédemment l'activité enzymatique de la salive décroît avec le temps, cet effet est moins marqué lorsque la salive est stockée en absence de lumière et au sec. Ce type de stockage correspond assez bien aux conditions de stockage réel cela tombe bien. Des techniques existent en plus pour réhydrater la tâche et restaurer le mieux possible l'activité enzymatique grâce à l'utilisation de certaines solutions ioniques voire de l'albumine bovine... mais un test immunologique peut repérer une protéine même lorsque celle-ci n'est plus active à proprement parler du moment que la partie antigène conserve sa structure.

Des tests comme RSID-saliva²² (Rapid Stain Identification) (cf. figure 2) ou SALigAE-saliva²³ proposent donc un marquage par des anticorps monoclonaux spécifiques de l'amylase salivaire. RSID-saliva propose un test d'immunochromatographie à flux latérale sur une bandelette.²⁴

²⁰ Carboni, Rapi, et Ricci, « Stability of human α -salivary amylase in aged forensic samples ».

²¹ Carboni, Rapi, et Ricci.

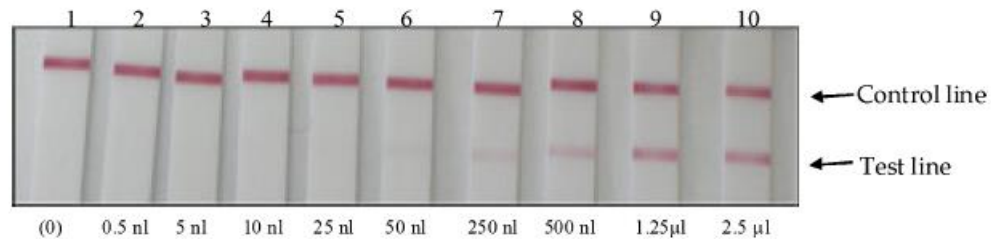
²² Casey et Price, « The sensitivity and specificity of the RSID™-saliva kit for the detection of human salivary amylase in the forensic science laboratory, Dublin, Ireland ».

²³ Pang et Cheung, « Applicability of two commercially available kits for forensic identification of saliva stains ».

²⁴ Akutsu et al., « Applicability of ELISA detection of statherin for forensic identification of saliva ».

Les fabricants du test RSID-saliva proposent ce test comme moyen de confirmation et non de détection de la salive.²⁵

Figure 2 : Test RSID saliva réalisé avec des concentrations croissantes de salive.



Source: Old et al., "Developmental validation of RSID™-Saliva: a lateral flow immunochromatographic strip test for the forensic detection of saliva", 2009

D'autres auteurs proposent de réaliser un test ELISA en ciblant la stathérine. Cette phosphoprotéine salivaire est très spécifique à la salive. Elle fait en outre partie de la famille de protéines salivaires les plus représentées. Elle peut être détectée dans des échantillons âgés ou mélangés à d'autres fluides. Les tests d'immunomarquage semblent beaucoup plus sensibles que les tests enzymatiques pour rappel le test PHADEBAS paper détectait de la salive diluée de 1/400 à 1/1000 selon les auteurs. Les tests RSID-saliva ou SALIgAE-saliva détectent de la salive diluée plus de 1/1000 à plus de 1/10 000 selon les auteurs. Le test ELISA ciblant la stathérine détecterait de la salive diluée plus de 1/1500. Les importantes variations de sensibilité semblent en accord avec les variations de composition de la salive d'un individu à l'autre ou même selon les conditions de prélèvement.

Le test PHADEBAS paper donne des résultats positifs pour d'autres fluides que la salive, comparables à de la salive mélangée à d'autres fluides. Les tests ELISA sur l'alpha amylase donnent également des faux positifs. Les tests ELISA sur la stathérine ne donne selon les auteurs pas de faux positifs, la stathérine n'est pas détectée dans d'autres fluides que la salive.

Une étude menée sur des déjections de mouches montre que nombre de tests ne sont pas assez spécifiques pour écarter ces artefacts et les classer comme projections de salive. Seul RSID-saliva permet d'écarter cette confusion, les autres tests (PHADEBAS paper et SALIgAE-saliva) pouvant donner des résultats faiblement positifs.

En raison de la facilité d'utilisation du test PHADEBAS paper les auteurs ne pensent pas que des tests ELISA puissent le remplacer mais plutôt le compléter avant de poursuivre les investigations sur l'échantillon de salive.

²⁵ Old et al., « Developmental validation of RSID™-saliva : a lateral flow immunochromatographic strip test for the forensic detection of saliva ».

5.3. Les microARN²⁶

Non codants, de petite taille, stables en dehors du corps, résistants aux contraintes extérieures les microARN peuvent être utilisés comme méthode alternative d'identification d'un fluide biologique.

Il semble qu'il n'y ait pas un microARN qui caractérise la salive, toutefois on peut utiliser le rapport des concentrations entre plusieurs microARN. Les études sur le sujet montrent qu'avec plusieurs microARN différents il est possible d'identifier un fluide biologique de manière certaine.²⁷

Toutefois l'analyse des microARN requiert du matériel quantitatif afin de déterminer le ratio de ces petits ARN. Des chromatographies bi dimensionnelles ainsi que l'utilisation de RT-PCR peuvent être requises. Donc plus difficiles d'accès qu'avec un test comme RSID-saliva qui tient dans la poche.

Ensuite la conservation des microARN, si elle est suffisante pendant quelques semaines (cette durée dépend des conditions de stockage), celle-ci décroît lors d'exposition à des températures moyennes (environ 20 degrés Celsius et plus) ou humidité. La lumière du jour (surtout les ultraviolets) accélère également leur dégradation.

5.4. Fluorescence et spectroscopie Raman

5.4.1. Fluorescence

La fluorescence est la capacité de recevoir de la lumière à une longueur d'onde donnée et d'en réémettre à une longueur d'onde supérieure.

La salive comme les autres fluides biologiques est fluorescente lorsqu'on l'éclaire à certaines longueurs d'onde. Le sang et le sperme par exemple répondent à de la lumière de 415 nm de longueur d'onde.

Peu d'études sont disponibles sur le sujet mais il est rapporté que la salive peut être excitée grâce à plusieurs longueurs d'onde, 282nm et plusieurs autres pics vers 320nm et vers 450nm (avec lunettes orange) dans le spectre ultraviolet et dans la lumière bleue. Lorsque l'on utilise des longueurs d'onde visibles il faut utiliser conjointement des lunettes pour filtrer les faibles longueurs d'onde.

Sous une lampe à 450 nm la salive peut être retrouvée sur du tissu jusqu'à une dilution de 1/10. Tous les autres fluides testés par le même auteur montrent une certaine fluorescence à 450nm. (Sperme, sang, urine et sécrétions vaginales).

²⁶ Wang et al., « Identification of saliva using microrna biomarkers for forensic purpose ».

²⁷ Sakurada et al., « Evaluation of mRNA-based approach for identification of saliva and semen ».

Cela semble évident mais il convient de le rappeler, la lumière à 450 nm n'endommage nullement un échantillon, la technique de la fluorescence est totalement non invasive. De plus comme elle est rapide à mettre en œuvre elle minimise le vieillissement des échantillons.²⁸

La fluorescence est donc un moyen rapide et facile à mettre en place pour rechercher des traces de salive peu diluées sur des surfaces étendues. On notera toutefois que cette recherche n'est pas spécifique, que la sensibilité peut être altérée par la matière et la couleur du support et n'est pas très élevée. Des additifs présents dans certaines lessives et adoucissants peuvent se montrer fluorescents à 450 nm, induisant alors des faux positifs ou rendant la lecture des taches plus difficile. A noter toutefois que si la lumière en elle-même peut provoquer de la fluorescence sur divers supports... en revanche l'utilisation de la fluorescence pour détecter des fluides biologiques dans des taches permet une « lecture » de ces taches. Si plusieurs fluides peuvent réémettre à 450 nm, en revanche pour un utilisateur entraîné il est possible de réduire le champ de recherche à deux ou trois possibilités. La salive partage le plus de ressemblance avec les sécrétions vaginales et sont selon les auteurs impossibles à différencier de cette façon.

Les auteurs ayant testé la détection de salive par fluorescence pensent que cette méthode pourrait remplacer les tests enzymatiques sur l'activité amylase, par l'existence de tests immunologiques beaucoup plus sensibles et spécifiques

5.4.2. La spectroscopie Raman

La spectroscopie Raman est une technique de spectroscopie faisant appel à l'effet Raman du nom de son inventeur. L'effet Raman prédit que la matière peut décaler la longueur d'onde des photons lorsqu'on l'éclaire avec un faisceau monochromatique. Le laser provoque des changements de niveaux d'énergie selon un mode où le photon n'est pas arrêté mais cède une partie de son énergie. Le retour à l'état d'énergie bas se fait en cédant l'énergie à un autre photon. On observe donc sur les figures de spectroscopie Raman un pic central accompagné de pics symétriques correspondants à l'énergie des photons du laser monochromatique +/- l'énergie de changement de niveau. Cet effet ne dépend pas de l'utilisation d'une longueur d'onde précise pour le faisceau principal.²⁹ La spectroscopie Raman est un moyen d'étude non destructeur de la matière, par opposition à la spectrométrie de masse par exemple.³⁰

²⁸ Vandenberg et Oorschot, « The use of polilightR in the detection of seminal fluid, saliva, and bloodstains and comparison with conventional chemical-based screening tests ».

²⁹ Virkler et Lednev, « Forensic body fluid identification ».

³⁰ Virkler et Lednev.

L'identification d'un composé aussi complexe que la salive en spectroscopie Raman est nécessairement plus complexe que celle d'une petite molécule simple. La figure de spectroscopie Raman de la salive produit de très nombreux pics, le nombre de composés provoque en plus comme vu précédemment des phénomènes de fluorescence dans le domaine de longueurs d'ondes concerné. L'étude du spectre Raman de la salive montre que malgré sa variabilité biochimique trois motifs caractéristiques peuvent être relevés. Ces motifs varient entre les échantillons et même pour un seul individu en fonction des conditions de prélèvement de la salive. Toutefois l'enveloppe de variation des motifs semble assez différente de celle des autres fluides biologiques (cf. figure 3). Sur la figure 3 les courbes a, b, c, d et e représentent des échantillons de salive, les courbes f et g sont respectivement les courbes d'échantillons de sang et de sperme.

Figure 3 : Courbes de spectroscopie Raman et significativité correspondante.

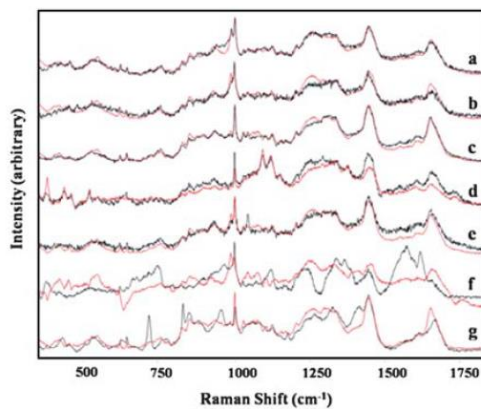


Table 2 Goodness-of-fit statistical results for saliva signature fitting

Sample	SSE	R ²	RMSE
1	0.36	0.986	0.014
2	0.25	0.995	0.012
3	0.26	0.994	0.012
4	0.45	0.985	0.016
5	0.35	0.986	0.014
6	0.37	0.992	0.014
7	0.27	0.991	0.012
8	0.42	0.991	0.015
9	0.30	0.986	0.013
10	0.22	0.992	0.011
11	0.22	0.990	0.011
12	0.22	0.996	0.011
13	0.16	0.997	0.0095
14	0.13	0.998	0.0088
15	0.29	0.994	0.013
99% Confidence Range	≤0.55	≥0.979	≤0.018
Blood	1.7	0.977	0.031
Semen	5.1	0.905	0.053

Source : Virkler et al., « Forensic body fluid identification: The Raman spectroscopic signature of saliva », 2009

L'utilisation de la spectroscopie Raman est longue et requiert du matériel. L'utiliser demande d'isoler un échantillon et de le préparer. La spectroscopie Raman est donc à réserver à la confirmation de la nature d'une tache précédemment identifiée comme salive.

5.5. Récupération de la salive en conditions extrêmes

Nous avons vu comment identifier de la salive, il ne reste plus qu'à savoir jusqu'où on peut trouver des quantités exploitables de salive.

La salive pure peut être prélevée au moyen d'un écouvillon en bouche, d'une compresse ou d'une pipette. Dans les études consultées la technique de référence peut être tantôt le single swab tantôt le

double swab. La technique dite single swab consiste à appliquer un coton humide et à le rouler sur la zone ciblée. La technique double swab consiste à appliquer un coton humide suivi d'un coton sec.³¹

Sur de la peau le coton doit être roulé sur la zone afin d'en exploiter le plus possible de surface tout en étant le moins abrasif possible. En effet lors de l'analyse ADN les cellules de la peau de la victime peut entrer en concurrence avec l'ADN contenu dans la salive et le rendre inexploitable.

Dans un article sur un cas de personne retrouvée morte avec une trace de morsure et immergée dans une rivière³² l'utilisation d'une seule compresse humide sur la trace de morsure a suffi pour révéler une petite quantité d'ADN n'appartenant pas à la victime. Cette quantité était insuffisante pour un typage complet mais suffisante pour aider dans l'enquête. Les auteurs estimaient qu'utiliser la technique double swab aurait permis de retirer plus d'ADN. La victime était restée immergée pendant plus de 5 heures dans la rivière.

Dans des conditions normales de la salive peut être retrouvée sur de la peau pendant 24 à 60 heures. Suite à une agression à caractère sexuel les victimes se lavent parfois avant d'aller voir la police. Cette attitude est très délétère et réduit considérablement la quantité de salive et autres fluides récupérables et donc la quantité d'ADN qui en ressortira. Les études sur le sujet montrent qu'une petite quantité de salive et d'ADN perdure sur la peau même après une douche. Les quantités sont souvent trop faibles pour analyses mais lorsque la victime est une femme et l'agresseur un homme les analyses sur les séquences du chromosome Y permettent de réduire considérablement le bruit de fond.³³ Dans cette étude le profil génétique de l'agresseur fictif avait pu être retrouvé grâce à la salive après même une douche.

Les personnels prenant en charge des victimes d'agression devraient donc pouvoir procéder à des prélèvements même si la victime a été lavée.

Nous notons que les études sérieuses sur le sujet sont réalisées avec une douche standardisée assez courte et un seul passage de savon. Une douche prolongée aurait certainement des effets plus gênants. La technique dite wet vacuum est proposée afin d'améliorer la quantité d'ADN récolté par rapport aux techniques de tamponnement de la zone ciblée. M-Vac systems propose l'appareil M-Vac pour automatiser le prélèvement d'ADN. L'appareil se manipule comme un aspirateur en le passant sur les zones suspectées. Le fabricant insiste sur l'aspect polyvalent de l'appareil ainsi que sur sa capacité à extraire de l'ADN d'une surface poreuse où un coton ou une compresse ne pourraient pas entrer en contact avec l'ensemble de la surface.

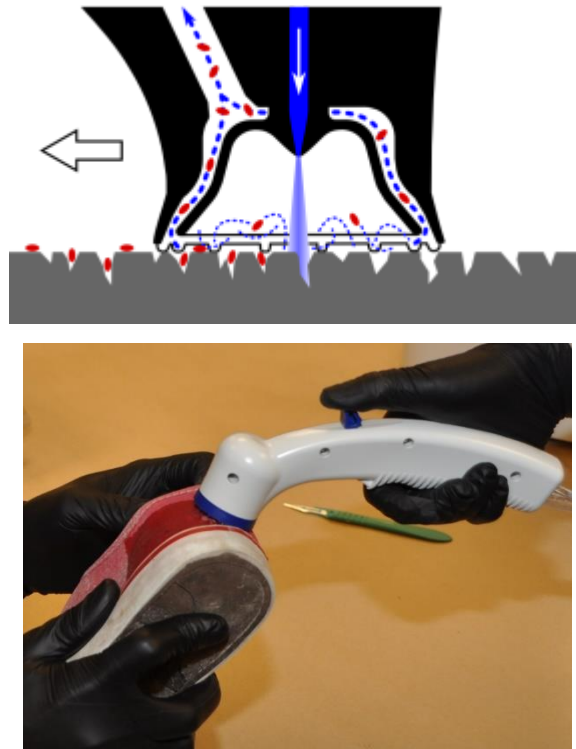
³¹ Pang et Cheung, « Double swab technique for collecting touched evidence ».

³² Sweet et Shutler, « Analysis of salivary DNA evidence from a bite mark on a body submerged in water ».

³³ Williams et al., « Recovery of salivary dna from the skin after showering ».

Une étude réalisée pour évaluer le système M-vac contre la technique double swab n'a pas conclu à une différence significative. L'étude était menée sur des femmes volontaires (victimes), de la salive d'un homme (agresseur) était déposée sur elles, puis celles-ci se lavaient sous la douche après 4 à 5 heures. Les expérimentateurs n'avaient pas récolté suffisamment d'ADN de la salive pour l'identifier par les STR autosomaux, mais avaient pu le faire par les Y-STR portés par le chromosome Y. Cette partie du génome exclusivement masculine n'est donc pas soumise au même bruit de fond de l'ADN des femmes. Les mêmes expérimentateurs n'ont pas observé de différence significative d'ADN récolté mais ont constaté que le système M-Vac était moins abrasif et avait moins récolté de cellules de la peau par rapport à la salive déposée dessus. L'appareil ne serait pas dénué d'intérêt de ce fait. Il apparait en plus que ce système permet de récolter plus vite et donc de couvrir des zones plus larges. Nous avons également noté que s'il semble faire l'unanimité que la technique dite double swab est plus efficace que la technique dite single swab, cette dernière n'en reste pas moins utilisée pour des raisons de vitesse d'exécution. Peut-être serait-il intéressant de confronter la technique single swab au système M-Vac (cf. figure 4)

Figure 4 : Le fonctionnement du M-Vac



Source : M-Vac Systems Inc., 2018

Une étude menée sur 12 couples volontaires a montré que de l'ADN masculin pouvait être détecté dans la salive totale des femmes volontaires.

Après 1 minute l'ADN masculin a pu être détecté chez 11 femmes.

Entre 5 et 10 minutes il était détectable chez 10 couples.

L'ADN masculin a pu être détecté chez 7 couples après 30 minutes et jusqu'à 60 minutes avec un ou plusieurs allèles récupérés. Les résultats sont présentés en tableau 5 avec le nombre d'allèles STRY retrouvés.

Tableau 5 : Allèles STRY récupérés dans la salive des femmes volontaires

Summary of identified Y-STR allele counts genotyped correctly in all tested samples at different time points after kissing.

Sample	Swab	Saliva samples – minutes after kissing				
		1	5	10	30	60
A	17	17	11	8	0	0
B	17	17	17	15	12	1
C	17	17	17	17	6	3
D	17	17	17	17	4	0
E	16	16	16	14	14	4
F	17	17	17	17	17	6
G	17	15	12	8	2	1
H	17	17	17	17	5	3
I	17	14	3	1	0	0
J	17	17	11	5	2	2
K	17	15	1	0	0	0
L	17	17	14	8	4	0
Sum	203	196	153	127	66	20

Source³⁴: Kamodyova et al., « Prevalence and persistence of male DNA identified in mixed saliva samples after intense kissing », 2013

Toutes ces études montrent que dans de nombreux cas de la salive peut être retrouvée plusieurs heures après des événements, même après que la victime se soit lavée ou soit restée immergée dans de l'eau pendant plusieurs heures.

³⁴ Kamodyová et al., « Prevalence and persistence of male DNA identified in mixed saliva samples after intense kissing ».

6 : ADN et caractérisation d'un individu

Nous arrivons là au but de la recherche de salive en médecine légale. Afin de confondre un coupable la justice a besoin de deux choses : des preuves et des aveux. Les seconds sont plus aisés à obtenir si l'on a déjà les preuves. Parmi les preuves l'ADN s'impose de plus en plus comme preuve irréfutable d'un contact avec l'individu. Il bénéficie en plus d'un certain petit côté magique de la science que beaucoup ont du mal à entrevoir. Récouter des preuves ADN est donc de la première importance dans de nombreuses affaires.

L'ADN d'un coupable est assez difficile d'accès du fait qu'il ne le laisse pas derrière lui comme une carte de visite. L'individu coupable d'un crime essaiera peut-être de dissimuler ces preuves matérielles qui permettent de remonter à lui. Les fluides biologiques sont un moyen d'obtenir l'ADN d'un individu lorsque ceux-ci sont retrouvés sur une scène de crime.

Les conditions dans lesquelles l'individu peut laisser de tels fluides biologiques dépendent du fluide en question : du sang en cas de blessure, de la salive sur un mégot, sur un gobelet ou dans un crachat. Du sperme en cas de viol...

Dans les cas de viol ou agressions sexuelles il peut être difficile de confondre un coupable en raison du faible nombre de preuves laissées. En effet la justice qualifie de viol l'acte sexuel non consenti réalisé avec violence, mais aussi réalisé avec contrainte ou menace ou encore par surprise. Ces trois derniers termes signifient qu'il n'y a pas forcément besoin de lutte et de violence pour établir le caractère subi de l'acte. La menace est assez simple à comprendre en cela qu'elle répond parfaitement à la définition de menace dans la langue française (notion de chantage et d'enjeu de violence), la contrainte couvre ce que la victime est obligée de faire, soit parce qu'elle est maintenue physiquement, soit parce que la situation est sans espoir de fuite (enfermée mais aussi en cas d'impasse professionnelle ou économique). La surprise recouvre un peu la contrainte sur ce qui est entrepris pour tromper le consentement de la victime, soit en la mettant dans un état où elle ne peut plus rien refuser ou accepter, y compris lorsque la victime se met d'elle-même dans cet état (alcool, drogues...). Mais sans violence il n'y a alors plus autant de preuves à analyser. Pas de sang lors d'une fellation forcée. Pas de trace de coups, de blessures ou de brûlures sous la menace d'une arme. Pas de scène de crime dans un grand nombre de cas.

6.1. Récupération d'ADN dans la salive

Il est possible d'extraire de l'ADN de la salive. Celui-ci provient des cellules épithéliales desquamées... mais aussi des très nombreuses espèces qui peuplent cet écosystème (pour plus de 90%). La récupération d'ADN salivaire requiert donc une étape d'amplification spécifique à l'ADN humain.³⁵

Le coût des techniques de génotypage décroissant fait que l'utilisation de la salive comme source d'ADN est en pleine explosion tant pour la science afin d'étudier les populations que sur le marché civil récréatif pour les personnes souhaitant remonter un peu leur généalogie (ou du moins l'origine géographique de ses ancêtres). La médecine légale ne fait pas exception.

Le support de choix pour l'extraction et l'étude de l'ADN est le sang, on peut y trouver 10 à 15 microgrammes d'ADN par mL... toutefois le sang présente aussi quelques défauts : le prélèvement est invasif, douloureux, présente des risques liés à la prise de sang, sa conservation est complexe et demande de la rigueur... et pour en revenir au sujet de cette thèse, on n'en dispose pas toujours. Trouver une méthode alternative pour récupérer de l'ADN n'est alors pas un luxe mais une nécessité. La salive humaine contient environ 11.4 microgrammes d'ADN/mL. 1 mL de salive contient environ $4 \cdot 10^5$ cellules épithéliales. Le renouvellement extrêmement rapide des cellules épithéliales des muqueuses non kératinisées suggère qu'il s'y trouve nécessairement de l'ADN exploitable. La salive contient également environ 10^7 à 10^8 cellules non humaines par mL. Ces bactéries n'interfèrent pas dans la détection ou la conservation de l'ADN humain présent dans la salive.

Certains auteurs proposent d'utiliser l'ADN extracellulaire présent dans la salive, cet ADN serait exploitable et aussi spécifique à l'individu que l'ADN présent dans les cellules desquamées³⁶.

6.2. Les méthodes d'extraction de l'ADN

Nous n'avons trouvé aucune étude sur des procédures spécifiques à la salive concernant les méthodes de concentration et d'extraction de l'ADN.

Nous avons cependant noté une utilisation systématique de la PCR (polymerase chain reaction). Ce recours s'explique par la faible quantité d'ADN humain dans la salive et la nécessité de l'isoler du reste.

6.3. Éléments recherchés dans l'ADN

- Les microsatellites : ces séquences de 1 à 4 nucléotides répétées de 5 à 100 fois en moyenne sont réparties dans le génome de manière aléatoire. Ces microsatellites peuvent provenir d'erreur de réplication du génome ou de reste de queues polyA de virus. Ces petites

³⁵ Quinque et al., « Evaluation of saliva as a source of human DNA for population and association studies ».

³⁶ Taki et Kibayashi, « Characterization of cellular and extracellular DNA in saliva ».

séquences peuvent être utilisées comme marqueurs pour établir une carte génétique ou pour identifier ou rejeter un suspect en médecine légale.

- Les minisatellites : ce sont des petites séquences de 10 à 100 nucléotides sont aussi appelées VNTR (*variable number tandem repeat*).³⁷
- Le chromosome Y et ses séquences hypervariables. Portées par le chromosome Y ces séquences sont en plus l'avantage de ne pas exister chez les femmes, et par conséquent d'être isolables en beaucoup plus petites proportions.

Les modifications épigénétiques.³⁸ Les méthylations de l'ADN sont uniques à chaque individu, une partie peut être transmise sur plusieurs générations, mais le processus de méthylation de l'ADN étant continu chaque personne possède un profil unique.

³⁷ Ikemoto et al., « Frequencies of salivary genetic marker systems in the Japanese population and their application to forensic medicine ».

³⁸ Vidaki et al., « Investigating the epigenetic discrimination of identical twins using buccal swabs, saliva, and cigarette butts in the forensic setting ».

7. Intérêt comparatif salive, sang et urine

Dans les cas de conduite sous l'influence de produits stupéfiants, le sang est le gold standard pour les dosages biologiques. Il est le seul fluide parfaitement représentatif de la concentration sanguine circulante. Il peut s'agir de détecter la présence de ces produits ou d'en détecter la dose circulante dans le plasma.^{39, 40}

L'urine est un autre fluide corporel très souvent utilisé dans les programmes de dépistage des drogues. La technologie est bien établie et de nombreuses études ont décrit comment interpréter les détections de médicaments. On peut obtenir facilement de grands volumes d'urine pour les analyses. L'urine permet en outre de détecter certains produits pendant plusieurs jours après la prise.

Le principal inconvénient des échantillons d'urine est leur recueil : difficile sous surveillance et qui peut être très long. Des installations spéciales doivent être prévues pour pouvoir observer le prélèvement d'échantillons pour éviter toute altération ou substitution.

La salive est aussi un support adapté à des fins de dépistage de drogues. Il est toutefois difficile d'établir des ratios de conversion directs entre salive et plasma en raison d'une grande variabilité entre individus, bien que des corrélations aient été établies, ce qui la place au-dessus de l'urine dont les concentrations sont par définition différentes des concentrations plasmatiques du fait du travail rénal pour tous les produits d'élimination des drogues et médicaments.

Certaines substances détectées lors des contrôles peuvent être légales, il est alors inintéressant de les détecter des semaines après la prise. C'est le cas des opiacés par exemple.

La salive est considérée comme un meilleur support au dépistage que l'urine.

Dans les programmes de traitement de la toxicomanie, l'utilisation du liquide oral comme alternative aux échantillons d'urine est en augmentation. Une bonne correspondance est observée entre prélèvements urinaires et salivaires chez les patients admis à un programme de traitement de la toxicomanie.

La collecte supervisée d'échantillons d'urine dans les cas de contrôles routiers pourrait prendre beaucoup de temps pour les policiers, et certains conducteurs trouvent le procédé intrusif pour leur vie privée. Si la salive peut donner le même résultat alors contrôleur et contrôlé préféreront la salive. Lorsque des échantillons de conducteurs présumés sous l'emprise de stupéfiants sont envoyés pour analyse, les échantillons d'urine sont alors utilisés pour déterminer la principale source d'opiacés.

³⁹ Casolin, « Comparison of urine and oral fluid for workplace drug testing ».

⁴⁰ Miller et al., « Urine drug testing results and paired oral fluid comparison from patients enrolled in long-term medication-assisted treatment in Tennessee ».

Après consommation d'héroïne, celle-ci est métabolisée rapidement en 6-monoacetylmorphine puis en morphine. La 6-monoacetylmorphine est alors un marqueur de la consommation d'héroïne, mais sa durée de vie est courte et il est souvent difficile de différencier l'héroïne et la morphine ou la codéine par l'urine.

Dans la salive les tests détectent assez fréquemment la 6-monoacetylmorphine. La salive permet donc de différencier assez efficacement les opiacés consommés. La collecte des échantillons de sang des conducteurs appréhendés par la police soupçonnée de conduite sous l'emprise de stupéfiants, pourrait être difficile, certains conducteurs concernés le sont pour plusieurs substances en même temps. Les analyses dans le sang exigent en général de très petits volumes d'échantillons pour chaque méthode, mais si moins de 5 ml sont collectés, le volume peut être trop bas pour le dépistage et la confirmation de plusieurs substances, si différents des méthodes doivent être utilisées. Une méthode alternative de dépistage est donc intéressante dans ce cas.

Si l'on veut utiliser la salive comme alternative à l'urine et au sang alors toutes les drogues d'usage courant doivent être détectables par cette voie. Il est justement montré par les études que la plupart des drogues et médicaments sont décelables dans la salive, au moins pour des tests semi quantitatifs. L'oxazépam peut être détecté après ingestion de l'oxazépam lui-même ou comme métabolite après ingestion de diazépam. N-desméthyldiazépam, un autre métabolite du diazépam détecté dans l'organisme est détecté lui aussi dans le liquide oral.

Il semble également que l'oxazépam, ingéré comme médicament parent, peut être détecté dans le liquide oral pendant au moins aussi longtemps que dans le sang, mais comme métabolite après ingestion de diazépam, temps de détection plus court. L'ingestion de diazépam est cependant détectée par le métabolite N-desméthyldiazépam, et cette corrélation entre les résultats dans le liquide oral et l'urine est bonne.

Les 7-nitro-1,4-benzodiazépines comme le nitrazépam, le flunitrazépam et le clonazépam est présent à de faibles concentrations dans le sang, et le temps de détection dans la salive est très court. Les études sur de très faibles concentrations montrent une bonne corrélation entre les détections de 7-amino-benzodiazépines dans la salive et l'urine. Lorsque le sang contient ces benzodiazépines, elles sont détectables dans la salive.

Le THC est plus difficile à détecter dans la salive que son métabolite THC-COOH que l'on détecte facilement dans l'urine. Par ailleurs le THC-COOH peut être détecté plus longtemps. En revanche le THC présent dans la salive indique une prise récente, et dans les études comparant les taux de détection entre salive et urine plus de 70% de corrélations retrouvée. Et lorsqu'on compare la détection dans le sang et la salive ce ratio se rapproche des 90% et dans la plupart des études, on dénonce plus des problèmes de manipulations des appareils de détection comme l'imprécision du

volume de salive souhaitable que le nombre de vrais faux négatifs. Les seuils de détection des appareils déterminent également un risque de faux négatifs.

La cocaïne et la benzoylecgonine, l'un de ses métabolites, sont détectés dans la salive. La cocaïne semble aussi bien détectée dans la salive que le sang. La période de détection de la cocaïne est assez courte, son temps de demie élimination dans la salive est rapporté entre une et quatre heures. Toutefois la benzoylecgonine se détecte plus longtemps, avec une demie élimination rapportée entre trois et treize heures. Pour ces deux substances les études rapportent jusqu'à 100% de congruence entre la détection dans le plasma et la salive. En abaissant la limite de détection à 1ng/ml certaines études montrent même un taux de détection meilleur que dans l'urine pour la benzoylecgonine.

La buprénorphine est détectée dans la salive.

On trouve donc dans la salive les mêmes substances que dans l'urine avec une meilleure relation avec la concentration plasmatique de ces substances. La période de détection est relevée comme plus courte que dans l'urine, mais permet d'une part de confirmer la prise récente, principalement en cas de prise orale, et d'autre part de relever de vraies conduites sous l'emprise de stupéfiants et non seulement leur prise durant les jours ayant précédé le test. Plusieurs substances testées en France sont légales comme médicaments et resserrer la fenêtre de détection n'est alors plus un défaut.

On constate en revanche qu'il y a généralement une faible corrélation entre les concentrations dans la salive et dans le plasma. Le rapport entre ces deux concentrations est en général compris entre 0,038 et 0,97.

Ceci montre qu'il n'est pas possible de définir un taux de conversion qui permette de déduire la concentration plasmatique à partir de la concentration salivaire.

Pour les amphétamines et les opiacés, les concentrations relevées dans la salive sont rapportées plus élevées que dans le sang, du fait de leurs propriétés physiologiques. Des concentrations plus élevées dans la salive que dans le sang ont également été vues pour le THC mais dans ce cas ceci serait dû à la contamination de la cavité buccale par les fumées.

Sur le plan analytique il est plus facile d'effectuer des tests sur l'urine que sur la salive, mais ces mesures sont moins fiables et le recueil de l'échantillon plus difficile.

Il conviendrait toutefois pour le cas du THC d'effectuer un test de vérification non salivaire (donc soit sur analyse d'urine soit par une prise de sang). Dans la mesure où le THC détecté dans la salive est selon toute vraisemblance dû à des contaminations, il n'atteste pas vraiment la présence de THC circulant dans le sang. Une attention particulière doit également être apportée à la surveillance des modes de consommation du cannabis. Si le seul moyen éthiquement acceptable pour des contrôles aléatoires systématiques repose sur la salive et que ce support ne révèle le THC que si celui-ci a été consommé par voie orale et en phase dispersée (fumée, vapeur, infusion ou n'importe quel autre

moyen qui dépose le THC sur les surfaces buccales), alors il faudrait revoir nos protocoles si les usagers se mettaient à consommer leur cannabis par exemple en comprimés ou en gélules.

8 : Réflexion éthique

8.1. Pour les tests salivaires aux stupéfiants

Si l'éthique se fait remarquer dans notre recherche d'articles, c'est bien par son absence ; et si elle est bien abordée par chacun des articles c'est toujours par les mêmes petites phrases :

- La salive est facile à prélever.
- On peut effectuer le prélèvement en présence d'un policier.
- Il est difficile d'altérer le prélèvement.
- Point besoin d'une salle spéciale qui prend de la place ou oblige à se déplacer ou déplacer des installations.
- Pas d'atteinte à la pudeur de la personne.

Mais toutes ces phrases génériques tournent surtout autour du problème éthique comme si celui-ci était déjà réglé et scellé définitivement.

Aucune question posée sur :

- Est-il normal de faire ordonner et effectuer un acte médical de biologie par un policier ?
- Certaines des substances testées sont des médicaments, est-il normal qu'un policier puisse voir l'ordonnance d'un patient ? un œil entraîné peut apprendre beaucoup de choses d'une ordonnance. Et un œil non médical avec des à priori pourrait facilement tirer des conclusions vraies ou fausses sur l'état de santé d'un patient et sur son mode de vie. Est-il judicieux de laisser un policier sans formation éthique accéder à ce type d'information sensible ? Est-ce gênant pour la personne de montrer son intimité à des inconnus ? nous nous souvenons du cas d'un contrôleur aérien qui avait souffert de stigmatisation par ses collègues suite à un examen corporel qui avait révélé la taille/l'état de son pénis.
- Quel préjudice sur la population ? peut-on soumettre les automobilistes à un test routier de plus ? dans un futur hypothétique la durée d'un contrôle de police pourrait-elle augmenter sans limite même si le bénéfice attendu n'est en rien contesté ?
- En France la loi prévoit un test de dépistage de l'alcool ET des stupéfiants pour les personnes impliquées dans un accident de la voie publique lorsqu'il y a blessure ou décès des personnes impliquées. Une étude sur le sujet montre que les tests des produits stupéfiants ne sont pratiqués que dans une très faible proportion des cas... dans quels cas ? quelles sont les motivations de ce choix par les forces de l'ordre ? y'a-t-il une possible dérive du système ?

- Toujours en France un test peut être pratiqué par un policier en cas d'infraction au code de la route, en cas d'accident n'ayant pas provoqué de blessure ou de suspicion de consommation. Un officier de police ou de gendarmerie peut également demander un test. Une dérive serait-elle possible ?
- Est-ce normal de ne cibler que certaines molécules et de laisser les autres circuler ?

La loi française est assez discrète sur la conduite à tenir en cas de conduite durant un traitement médical par des opiacés.

Concernant l'intérêt des tests salivaires routiers de dépistage des stupéfiants proposons une petite expérience de pensée :

Supposons que nous n'ayons jamais développé la prise de sang, mais que nous utilisions déjà les tests salivaires tels que nous les possédons aujourd'hui.

Supposons alors qu'un test sanguin ou urinaire arrive sur le marché, il présente les avantages et inconvénients des tests actuels cités plus haut...

Accepterions-nous de nous plier à ce type de tests pour le bénéfice attendu en échange de prises de sang douloureuses et non sans risque ou d'attente dans une petite salle en présence d'un policier pour uriner dans un gobelet. Est-il réalisable d'imposer plusieurs prises de sang à la même personne dans un intervalle de temps réduit ? autoriserait on alors une sorte de période réfractaire quelques jours après un test de dépistage routier ou le conducteur sachant qu'il ne peut plus être dépisté pourrait profiter pour consommer son poison préféré et conduire ? devrait-on faire attendre plusieurs heures une personne pour la faire uriner dans un gobelet ou devrait on la relâcher au bout d'un certain délai ? selon la loi française un policier ne peut priver de liberté un citoyen sans une bonne raison.

Le bénéfice éthique de la pratique d'un test salivaire à la place d'un test urinaire ou d'un dépistage dans le sang nous semble donc évident en cela que le test est plus facile, rapide et sans conséquences connues sur la santé et peut donc être reproduit sans délai. Nous pensons en revanche que cette apparente facilité ne devrait pas servir à couvrir une dérive et que l'usage de ces tests devrait faire l'objet d'une surveillance éthique continue.

8.2. Pour l'utilisation de la salive afin d'identifier un individu par son ADN

Nous avons peu de choses à lire sur le sujet comme pour la partie précédente. Mais nous avons peut-être moins de choses à dire.

En premier lieu l'utilisation d'ADN en médecine légale est établie depuis des dizaines d'années et son rapport intérêt/risque de dérive est déjà débattu et a été accepté. La salive ne se place que dans la continuité de cette utilisation. Autant du point de vue des coupables confondus par cette méthode que du point de vue des suspects innocentés, le consensus sur l'utilisation de l'ADN est bien établi.

Toutefois nous n'avons trouvé aucune référence sur le sujet. Il en existe probablement mais ces références ne ressortent pas avec notre équation de recherche.

Ensuite ce qui arrive au corps d'un mort n'est plus vraiment du domaine de la médecine et ne peut pas prétendre à un traitement semblable. L'on pourrait penser que le droit de la personne à ce qu'on lui rende justice prévaut sur le droit de son cadavre.

Conclusion

La salive peut être utilisée comme moyen de dépister l'usage de stupéfiants. En revanche on peut dire que soit les tests ne sont pas encore au point, soit les lois doivent évoluer afin de les utiliser en accord avec leur principe de fonctionnement et en adéquation avec la physiologie vis-à-vis des substances recherchées. En l'état aucun test ne répond aux besoins du rapport ROSITA.

La salive est un moyen valide de recueillir de l'ADN sur une scène de crime ou sur une victime. La salive ainsi récupérée est non seulement utilisable mais elle est en plus très résistante et peut être recueillie et utilisée même après lavage ou diluée.

Bibliographie

Akutsu, T., K. Watanabe, Y. Fujinami, et K. Sakurada. « Applicability of ELISA detection of statherin for forensic identification of saliva ». *International journal of legal medicine* 124, n° 5 (2010): 493-98. <https://doi.org/10.1007/s00414-009-0391-2>.

Anzillotti, L., E. Castrignanò, S. S. Rossi, et M. Chiarotti. « Cannabinoids determination in oral fluid by SPME-GC/MS and UHPLC-MS/MS and its application on suspected drivers ». *Science & justice* 54, n° 6 (2014): 421-26. <https://doi.org/10.1016/j.scijus.2014.08.004>.

Arrêté du 13 décembre 2016 fixant les modalités du dépistage des substances témoignant de l'usage de stupéfiants, et des analyses et examens prévus par le code de la route et abrogeant l'arrêté du 5 septembre 2001 modifié fixant les modalités du dépistage des substances témoignant de l'usage de stupéfiants, et des analyses et examens prévus par le code de la route (2016). <https://www.legifrance.gouv.fr/eli/arrete/2016/12/13/AFSP1636875A/jo/texte>.

Blencowe, T., A. Pehrsson, P. Lillsunde, K. Vimpari, S. Houwing, B. Smink, R. Mathijssen, et al. « An analytical evaluation of eight on-site oral fluid drug screening devices using laboratory confirmation results from oral fluid ». *Forensic science international* 208, n° 1-3 (2011): 173-79. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2010.11.026>.

Carboni, I., S. Rapi, et U. Ricci. « Stability of human α -salivary amylase in aged forensic samples ». *Legal medicine* 16, n° 4 (2014): 214-17. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2014.03.004>.

Casey, D. G., et J. Price. « The sensitivity and specificity of the RSID™-saliva kit for the detection of human salivary amylase in the forensic science laboratory, Dublin, Ireland ». *Forensic science international* 194, n° 1-3 (2010): 67-71. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2009.10.009>.

Casolin, A. « Comparison of urine and oral fluid for workplace drug testing ». *Journal of analytical toxicology* 40, n° 7 (2016): 479-85. <https://doi.org/10.1093/jat/bkw055>.

Choi, H., S. Baeck, M. Jang, S. Lee, H. Choi, et H. Chung. « Simultaneous analysis of psychotropic phenylalkylamines in oral fluid by GC-MS with automated SPE and its application to legal cases ». *Forensic science international* 215, n° 1-3 (2012): 81-87. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2011.02.011>.

Choi, H., S. Baeck, E. Kim, S. Lee, M. Jang, J. Lee, H. Choi, et H. Chung. « Analysis of cannabis in oral fluid specimens by GC-MS with automatic SPE ». *Science & justice* 49, n° 4 (2009): 242-46. <https://doi.org/10.1016/j.scijus.2009.09.015>.

Humphrey, S. P., et R. T. Williamson. « A review of saliva : normal composition, flow, and function ». *The journal of prosthetic dentistry* 85, n° 2 (2001): 162-69. <https://doi.org/10.1067/mpr.2001.113778>.

Ikemoto, S., K. Tomita, K. Minaguchi, et K. Suzuki. « Frequencies of salivary genetic marker systems in the Japanese population and their application to forensic medicine ». *Forensic science international* 14, n° 1 (1979): 41-47. [https://doi.org/10.1016/0379-0738\(79\)90153-1](https://doi.org/10.1016/0379-0738(79)90153-1).

Kamodyová, N., J. Durdiaková, P. Celec, T. Sedláčková, G. Repiská, B. Sviežená, et G. Minárik. « Prevalence and persistence of male DNA identified in mixed saliva samples after intense kissing ». *Forensic science international : genetics* 7, n° 1 (2013): 124-28. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2012.07.007>.

Miller, K. L., B. L. Puet, A. Roberts, C. Hild, J. Carter, et D. L. Black. « Urine drug testing results and paired oral fluid comparison from patients enrolled in long-term medication-assisted treatment in Tennessee ». *Journal of substance abuse treatment* 76 (2017): 36-42. <https://doi.org/10.1016/j.jsat.2017.01.005>.

Observatoire européen des drogues et des toxicomanies. « Fiches drogues ». European monitoring centre for drugs and drug addiction, 2014. <http://www.emcdda.europa.eu/publications/drug-profiles/fr>.

Observatoire français des drogues et toxicomanies, et M. Pousset, éd. *Drogues et addictions, données essentielles*. Saint-Denis La Plaine: Observatoire français des drogues et toxicomanies, 2013. <https://www.ofdt.fr/BDD/publications/docs/da13com.pdf>.

Ohta, J., et M. Ohmura. « Reducing of salivary α -amylase inhibition by using bovine serum albumin and calcium chloride for forensic saliva screening ». *Legal medicine* 28 (2017): 54-58. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2017.07.008>.

Øiestad, E. L., R. Karinen, A. S. Christophersen, V. Vindenes, et L. Bachs. « Analyses of beverage remains in drug rape cases revealing drug residues : the possibility of contamination from drug concentrated oral fluid or oral cavity contained tablets ». *Journal of forensic sciences* 59, n° 1 (2014): 208-10. <https://doi.org/10.1111/1556-4029.12270>.

Old, J. B., B. A. Schweers, P. W. Boonlayangoor, et K. A. Reich. « Developmental validation of RSID™-saliva : a lateral flow immunochromatographic strip test for the forensic detection of saliva ». *Journal of forensic sciences* 54, n° 4 (2009): 866-73. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2009.01055.x>.

Pang, B. C. M., et B. K. K. Cheung. « Double swab technique for collecting touched evidence ». *Legal medicine* 9, n° 4 (2007): 181-84. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2006.12.003>.

Pang, B. C. M., et B. K. K. Cheung. « Applicability of two commercially available kits for forensic identification of saliva stains ». *Journal of forensic sciences* 53, n° 5 (2008): 1117-22. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2008.00814.x>.

Poetzsch, M., A. E. Steuer, C. M. Hysek, M. E. Liechti, et T. Kraemer. « Development of a high-speed MALDI-triple quadrupole mass spectrometric method for the determination of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) in oral fluid : high-speed MALDI-triple quadrupole mass spectrometric method for MDMA ». *Drug testing and analysis* 8, n° 2 (2016): 235-40. <https://doi.org/10.1002/dta.1810>.

Psoter, K. J., B. S. Roudsari, M. K. Dighe, M. L. Richardson, D. S. Katz, et P. Bhargava. « Biostatistics primer for the radiologist ». *American journal of roentgenology* 202, n° 4 (2014): W365-75. <https://doi.org/10.2214/AJR.13.11657>.

Quinque, Dominique, R. Kittler, M. Kayser, M. Stoneking, et I. Nasidze. « Evaluation of saliva as a source of human DNA for population and association studies ». *Analytical biochemistry* 353, n° 2 (2006): 272-77. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2006.03.021>.

Sakurada, K., H. Ikegaya, H. Fukushima, T. Akutsu, K. Watanabe, et M. Yoshino. « Evaluation of mRNA-based approach for identification of saliva and semen ». *Legal medicine* 11, n° 3 (2009): 125-28. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2008.10.002>.

Sweet, D., et G. G. Shutler. « Analysis of salivary DNA evidence from a bite mark on a body submerged in water ». *Journal of forensic sciences* 44, n° 5 (1999): 12045J. <https://doi.org/10.1520/JFS12045J>.

Taki, T., et K. Kibayashi. « Characterization of cellular and extracellular DNA in saliva ». *Legal Medicine* 17, n° 6 (2015): 471-74. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2015.10.003>.

Teixeira, H., A. Verstraete, P. Proença, F. Corte-Real, A. Monsanto, et D. N. Vieira. « Validated method for the simultaneous determination of δ^9 -thc and δ^9 -thc-cooh in oral fluid, urine and whole blood using solid-phase extraction and liquid chromatography–mass spectrometry with electrospray ionization ». *Forensic science international* 170, n° 2-3 (2007): 148-55. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2007.03.026>.

Vandenberg, N., et R. A. H. Oorschot. « The use of polilightR in the detection of seminal fluid, saliva, and bloodstains and comparison with conventional chemical-based screening tests ». *Journal of forensic sciences* 51, n° 2 (2006): 361-70. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2006.00065.x>.

Verstraete, A. « Roadside testing assessment ». European commission, 2000. <https://trimis.ec.europa.eu/sites/default/files/project/documents/rositarep.pdf>.

Vidaki, A., V. Kalamara, E. Carnero-Montoro, T. Spector, J. Bell, et M. Kayser. « Investigating the epigenetic discrimination of identical twins using buccal swabs, saliva, and cigarette butts in the forensic setting ». *Genes* 9, n° 5 (2018): 252. <https://doi.org/10.3390/genes9050252>.

Virkler, K., et I. K. Lednev. « Forensic body fluid identification : the Raman spectroscopic signature of saliva ». *The analyst* 135, n° 3 (2010): 512-17. <https://doi.org/10.1039/B919393F>.

Wang, Z., J. Zhang, W. Wei, D. Zhou, H. Luo, X. Chen, et Y. Hou. « Identification of saliva using microrna biomarkers for forensic purpose ». *Journal of forensic sciences* 60, n° 3 (mai 2015): 702-6. <https://doi.org/10.1111/1556-4029.12730>.

Williams, S., E. Panacek, W. Green, S. Kanthaswamy, C. Hopkins, et C. Calloway. « Recovery of salivary dna from the skin after showering ». *Forensic science, medicine, and pathology* 11, n° 1 (2015): 29-34. <https://doi.org/10.1007/s12024-014-9635-7>.

Wornes, D. J., S. J. Speers, et J. A. Murakami. « The evaluation and validation of PHADEBAS® paper as a presumptive screening tool for saliva on forensic exhibits ». *Forensic science international* 288 (2018): 81-88. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2018.03.049>.

Zancanaro, Ivomar, R. Pereira Limberger, Paula O. Bohel, M. Kerpel dos Santos, R. B. De Boni, F. Pechansky, et E. Dutra Caldas. « Prescription and illicit psychoactive drugs in oral fluid-LC-MS/MS method development and analysis of samples from brazilian drivers ». *Forensic science international* 223, n° 1-3 (2012): 208-16. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2012.08.048>.

Table des figures

Figure 1 : Volcano.....	14
Figure 2 : Test RSID saliva réalisé avec des concentrations croissantes de salive.	36
Figure 3 : Courbes de spectroscopie Raman et significativité correspondante.....	39
Figure 4 : Le fonctionnement du M-Vac.....	41

Table des tableaux

Tableau 1 : Sensibilité, spécificité, précision et valeurs de prédiction d'un certain nombre de tests..	26
Tableau 2 : Résultats détaillés pour les amphétamines.....	27
Tableau 3 : Résultats détaillés pour le THC.....	28
Tableau 4 : Tableau récapitulatif des relations entre les identités mathématiques utilisées en biostatistiques	30
Tableau 5 : Allèles STRY récupérés dans la salive des femmes volontaires	42

Vu, le Directeur de thèse

Vu, le Doyen de la Faculté de Chirurgie dentaire
de l'Université Paris Descartes

Professeur Bruno GOGLY

Professeur Louis MAMAN

Vu, le Président de l'Université Paris Descartes

Professeur Frédéric DARDEL

Pour le Président et par délégation,

Le Doyen Louis MAMAN

La salive en médecine légale : revue de la littérature

Résumé :

La salive intéresse de plus en plus dans les domaines des analyses médicales comme support de diagnostic en alternative au sang et à l'urine de par ses avantages, un accès non invasif, sans atteinte à la dignité ni à l'intégrité du corps humain, et de sa facilité d'accès même par des personnels peu qualifiés. En médecine légale elle présente en plus l'avantage de pouvoir être prélevée sous surveillance permanente. La salive est le fluide biologique issu du mélange des sécrétions des glandes salivaires, du fluide gingival, des cellules exfoliées de l'épithélium buccal et de flore buccale. Sa composition en lien étroit avec celle du plasma sanguin permet d'y détecter drogues, médicaments et poisons. Retrouvée sur des scènes de crime lors d'un contact avec la cavité buccale, le contenu cellulaire y autorise des analyses ADN qui peuvent permettre d'identifier un suspect humain ou animal. Nous montrons que les tests salivaires aux stupéfiants montrent de réelles performances, mêmes si celles-ci ne correspondent pas encore aux exigences du rapport ROSITA. Nous montrons également que la salive est une source d'ADN valable et exploitable, ainsi qu'un support très résistant et doit être recherchée même lorsque la zone en contact a été lavée ou immergée.

Discipline :

Odontologie légale

Mots clés fMesh et Rameau :

Détection d'abus de substances -- Dissertations universitaires ; Profilage d'ADN -- Dissertations universitaires ; Toxicologie légale -- Thèses et écrits académiques ; Génétique médico-légale -- Thèses et écrits académiques

Université Paris Descartes
Faculté de Chirurgie dentaire
1, rue Maurice Arnoux
92120 Montrouge