



**HAL**  
open science

## Graines de pavot présentes sur du pain anormalement contaminées aux alcaloïdes de l'opium en France

Adeline Knapp-Gisclon, Nicolas Fabresse, Ingrid Fuss-Ohlen, Pamela Dugues, Marie Martin, Islam Amine Larabi, Isabelle Etting, Charlotte Mayer, Jean-Claude Alvarez

### ► To cite this version:

Adeline Knapp-Gisclon, Nicolas Fabresse, Ingrid Fuss-Ohlen, Pamela Dugues, Marie Martin, et al.. Graines de pavot présentes sur du pain anormalement contaminées aux alcaloïdes de l'opium en France. Toxicologie Analytique et Clinique, 2019, 31 (3), pp.135-144. 10.1016/j.toxac.2019.04.003 . hal-02936264

HAL Id: hal-02936264

<https://uvsq.hal.science/hal-02936264v1>

Submitted on 20 Jul 2022

**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 4.0 International License

# **Graines de pavot présentes sur du pain anormalement contaminées aux alcaloïdes de l'opium en France**

## **Poppy seeds on bread abnormally contaminated with opium alkaloids in France**

Adeline KNAPP-GISCLON<sup>1</sup>, Nicolas FABRESSE<sup>1,2\*</sup>, Ingrid FUSS-OHLEN<sup>3</sup>, Pamela  
DUGUES<sup>1</sup>, Marie MARTIN<sup>1</sup>, Islam Amine LARABI<sup>1,2</sup>, Isabelle ETTING<sup>1</sup>, Charlotte  
MAYER<sup>1</sup>, Jean-Claude ALVAREZ<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Laboratoire de Pharmacologie – Toxicologie, Centre Hospitalier Universitaire Raymond  
Poincaré, AP-HP, 104 boulevard Raymond Poincaré, 92380, Garches, France*

<sup>2</sup>*Plateforme de Spectrométrie de Masse MassSpecLab, INSERM UMR 1173, UFR des  
Sciences de la Santé Simone Veil, Université Versailles Saint-Quentin, 2 avenue de la source  
de la Bièvre, 78180, Montigny le Bretonneux, France*

<sup>3</sup>*Laboratoire de Biologie Médicale SNCF, 114 rue de Maubeuge, 75010 Paris, France*

\*Corresponding Author : Dr Nicolas FABRESSE

Laboratoire de Pharmacologie – Toxicologie

Centre Hospitalier Universitaire Raymond Poincaré, AP-HP

104, Boulevard R. Poincaré, 92380 Garches (France)

Tel : 33-1-47-10-79-38

Fax : 33-1-47-10-79-23

e-mail: nicolas.fabresse@aphp.fr

## Résumé

Suite à des dépistages urinaires positifs en opiacés chez certains employés travaillant sur des postes à risque dans une société de transport alors que ces sujets prétendaient ne rien consommer d'autres que des sandwiches aux graines de pavot, une étude a été menée afin d'évaluer la teneur en opiacés des baguettes et sandwiches aux graines de pavot commercialisés dans certaines boulangeries ainsi que les concentrations urinaires, salivaires et plasmatiques observées après consommation de ces produits.

Onze personnes ont participé à cette étude, parmi elles 6 ont ingéré une baguette entière aux graines de pavot, et 9 un sandwich avec ces graines provenant de 2 boulangeries situées à Paris et à Versailles. Les concentrations urinaires des différents opiacés ont été mesurées durant les 18 h qui ont suivi l'ingestion des baguettes et les 48 h suivant l'ingestion des sandwiches, une recherche salivaire a été effectuée durant 10h et les concentrations plasmatiques ont été mesurées jusqu'à 3,5h chez un des sujets après ingestion du sandwich. Les analyses ont été réalisées en chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem. Afin de mettre en évidence d'éventuels biomarqueurs spécifiques d'exposition aux graines de pavot et discriminant d'une prise d'héroïne, les échantillons d'urine ont également été analysés en spectrométrie de masse haute résolution avec une approche métabolomique.

Les concentrations retrouvées dans les graines de pavot sont pour la morphine, la codéine, la thébaïne et la laudanosine de 530 mg/kg, 80 mg/kg, 300 mg/kg et 10 mg/kg, respectivement. Après ingestion d'une baguette, toutes les urines sont positives pendant au moins 18 heures, durée du recueil, avec des concentrations moyennes maximales à H4 atteignant pratiquement 2800 ng/mL pour la morphine totale et 700 ng/mL pour la codéine totale. Après ingestion d'un sandwich, les urines sont toutes positives en morphine totale jusqu'à 18 heures avec des concentrations moyennes maximales à H4 de l'ordre de 1800 ng/mL et 360 ng/mL pour la codéine totale. Certaines sont toujours positives 48h après ingestion. Dans le plasma, les

concentrations de morphine retrouvées sont comprises entre 18 et 19 ng/mL, soit des concentrations actives pharmacologiquement. La noscapine et la 6-acetylmorphine ne sont retrouvées qu'après prise d'héroïne, alors que la thébaïne et pour la première fois décrit ici, la 6-O-desmethylthébaïne-glucuronide et la O-desmethyl-laudanosine-glucuronide ne sont présents qu'après absorption de graines de pavot.

Cette étude a montré la présence de morphine et de codéine en quantité très importante dans certains pains aux graines de pavot disponibles dans le commerce. Ces concentrations, bien supérieures aux recommandations de l'Autorité Européenne de Sécurité des aliments (EFSA), peuvent avoir des conséquences importantes dans un cadre médico-légal ou dans un cadre de médecine du travail, mais également présenter des risques pour la santé sur les populations les plus fragiles. La recherche de thébaïne devrait être réalisée systématiquement lors de la recherche d'opiacés dans le sang, les urines et la salive afin de discriminer une prise de graines de pavot d'une prise d'héroïne.

Mots-clés : graines de pavot, pain, CL-SM/SM, morphine, thébaïne

## **Abstract**

Following positive opiate urine testing in employees working in risk positions in a transport company while these subjects claimed to consume nothing other than poppy seed sandwiches, a study was carried out to evaluate the opiates content of poppy seed baguettes and sandwiches as well as the urine, saliva and plasmatic concentrations observed after consumption of these products.

Eleven people took part in this study, 6 ingested a whole poppy seed baguette and 9 ate a sandwich. Urinary concentrations for opioids were measured for 48 hours, saliva was analyzed for 10 hours, and plasma levels were measured up to 3.5 hours in one subject. Analyses were performed using liquid chromatography - tandem mass spectrometry. In order to highlight biomarkers of exposure to poppy seeds, urine samples were also analyzed in high resolution mass spectrometry with a metabolomic approach.

The concentrations found in poppy seeds for morphine, codeine, thebaine and laudanosine are 530 mg/kg, 80 mg/kg, 300 mg/kg and 10 mg/kg, respectively. Urine concentrations observed after ingestion of the baguette were all positive until 18h with maximal average concentrations observed at H4 around 2800 ng/mL for total morphine and 700 ng/mL for total codeine. After ingestion of a sandwich, all urines tested positive for morphine until 18h, with a maximal average at H4 around 1800 ng/mL and 360 ng/mL for total codeine. Some were still positive after 48h. In plasma, the morphine concentrations were between 18 and 19 ng/mL, corresponding to pharmacologically active concentrations. Noscapine and 6-acetylmorphine are biomarkers for heroin intake, while thebaine and for the first time here, 6-O-desmethylthebaine-glucuronide and O-desmethyl-laudanosine-glucuronide are identified as biomarkers for poppy seeds ingestion.

This study showed the presence of morphine and codeine in very large quantities in some commercially available breads. These concentrations, far superior from the European Food

Safety Authority's (EFSA) recommendations, can have major consequences particularly from a forensic point of view or in the context of occupational medicine, but also for the health of the most vulnerable populations. The detection of thebaine should be systematically performed when looking for opiates in blood, urine and saliva to facilitate interpretation of the results.

Key words: poppy seeds, bread, LC-MS/MS, morphine, thebaine

## Introduction

L'existence du Pavot à opium (*Papaver somniferum* L.) est étroitement liée à celle de l'homme, à tel point qu'il n'existe pas de population sauvage de la plante, celle-ci résulte d'un long processus de sélection par l'espèce humaine. Des graines et des capsules de pavot vieilles de plus de 4000 ans ont été retrouvées en Suisse parmi des vestiges de l'âge de pierre, d'autres datant de 3100 avant l'ère chrétienne ont été retrouvées en Espagne. Il existe de nombreuses descriptions historiques de l'utilisation de l'opium dans la Grèce antique, l'Égypte, la Chine, en Inde, pendant l'ère Romaine, jusqu'à l'isolation de la morphine au 19<sup>ème</sup> siècle par Wilhelm Sertüner (1).

*Papaver somniferum* L. contient plusieurs alcaloïdes de type phénanthène dont la morphine, la codéine et la thébaïne, et de type benzyloquinoline comme la papavérine, la noscapine ou la laudanosine. Parmi ces alcaloïdes, seules la morphine et la codéine présentent des propriétés psychoactives, la papavérine est utilisée pour ses propriétés spasmolytiques, musculotropes et vasodilatatrices, la noscapine pour ses propriétés antitussives et la thébaïne est utilisée comme précurseur pour la synthèse d'antalgiques opiacés semi-synthétiques comme la buprénorphine, l'oxycodone et la naltrexone (2,3). Aujourd'hui, malgré la possibilité de synthétiser de la morphine, *Papaver somniferum* L. reste la première source de production de morphine en raison d'un coût beaucoup plus faible. La teneur en alcaloïdes d'un plant de pavot dépend de la variété de pavot et des conditions de croissance (sécheresse, infection fongique). Les alcaloïdes sont surtout abondants dans le latex ou opium ainsi que dans la paille de pavot (morphine, codéine et thébaïne). L'utilisation du pavot ne se limite pas aux propriétés pharmacologiques de ses alcaloïdes, et l'emploi des graines de pavot dans la cuisine est très répandu. Les graines de pavot sont très appréciées en boulangerie pour leurs propriétés gustatives et décoratives. Leur utilisation est très répandue en Europe de l'est où il

existe de nombreuses spécialités à base de graines de pavot. La consommation de graines de pavot sous forme d'infusion est également décrite.

Ces graines de pavot ne contiennent en principe pas d'alcaloïdes. Cependant, lors de la récolte des graines, il est très fréquent que ces dernières subissent une contamination par la paille et/ou le latex.

L'Agence Européenne de Sécurité des Aliments (EFSA) a publié en 2011 un rapport évaluant la teneur en alcaloïdes des graines de pavot et différentes techniques permettant de les décontaminer (4). La concentration de morphine la plus faible pouvant être responsable d'effet (LOEL) chez l'homme retenue dans ce rapport étant de 30 µg/kg de poids corporel chez un sujet adulte (soit environ 2 mg de morphine pour un sujet de 70 kg), ce rapport préconise, en prenant un facteur 3 d'incertitude, que la quantité de morphine à ne pas dépasser dans les graines de pavot devrait être de 10 µg de morphine par kg de poids corporel du sujet ingérant ces graines. Cependant, il n'existe aucune législation européenne ou française fixant la teneur en alcaloïdes à ne pas dépasser pour les graines de pavot utilisées à des fins alimentaires.

La contamination des graines de pavot par la morphine et la codéine est bien documentée (5). Elle a donné lieu à la « *poppy seed defense* ». Dans les années 90, la Substance Abuse and Mental Health Services Administration (SAMHSA) aux Etats-Unis a même proposé d'augmenter le seuil de positivité de 300 ng/mL à 2000 ng/mL lors des dépistages urinaires aux opiacés sur les lieux de travail pour éviter ce problème, en rajoutant la présence de 6-monoacétylmorphine à plus de 10 ng/mL pour caractériser une prise d'héroïne (6).

Dans le cas présent, lors de contrôles urinaires de routine, dans un cadre de médecine du travail, plusieurs personnes ont été retrouvées positives aux opiacés avec présence de concentrations importantes de morphine et des concentrations plus faibles de codéine. Ces

résultats pouvaient faire évoquer une prise de morphine associée à de la codéine voire une prise plus ancienne d'héroïne avec élimination de la 6-monoacétylmorphine. Les personnes concernées ont nié toute consommation d'opiacés mais ont dit avoir ingéré récemment des sandwiches aux graines de pavot. Une étude a donc été menée en interne afin de vérifier la quantité réelle d'alcaloïdes présente sur ces sandwiches et de confirmer ou non la possibilité de positiver les tests urinaires mais également les tests salivaires pour la recherche d'opiacés après consommation de tels sandwiches.

## **Matériels et méthodes**

### **1) Réactifs**

L'acétonitrile de qualité HPLC a été obtenu auprès de VWR (Fontenay-sous-Bois, France). Le méthanol, le formiate d'ammonium, l'acide formique, le sulfate de Zinc et la laudanosine ont été fournis par Merck (Darmstadt, Allemagne). L'eau ultra-pure a été obtenue après ultrafiltration par un appareil Direct-Q UV3 (Millipore Corp., Molsheim, France). Les ampoules à 1 mg/mL de morphine, codéine, morphine-3 $\beta$ -glucuronide, codéine-6 $\beta$ -glucuronide, thébaïne, laudanosine, papavérine, noscapine et à 0,1 mg/mL de morphine-D3, codéine-D3 et morphine-3 $\beta$ -glucuronide-D3 ont été fournies par Lipomed (Arlesheim, Suisse). La thébaïne a été fournie par LGC (Molsheim France) et la laudanosine par Interchim (Montluçon France).

### **2) Construction de l'étude**

Dans un premier temps, une analyse qualitative et quantitative a été réalisée sur les graines de pavot prélevées sur une baguette achetée auprès du fournisseur identifié par le personnel de l'entreprise.

Dans un second temps, six sujets volontaires (sujet 1 à 6), 3 hommes et 3 femmes ont ingéré une baguette aux graines de pavot au cours d'un repas. Les baguettes ont été achetées sur 3 jours différents auprès du même fournisseur. Le temps du repas était d'environ 1 heure. Des recueils urinaires ont été effectués avant l'ingestion, puis 2,5 h, 4 h, 6 h et 8 h après le repas. Devant les premiers résultats, des recueils ont été ajoutés après 10 h et 18 h chez 3 sujets (sujets 3, 5 et 6).

Enfin, 9 sujets adultes (dont 4 ayant déjà participé à l'étude baguette) ont ingéré un sandwich aux graines de pavot, correspondant approximativement à une demi-baguette. Les sandwiches ont été achetés auprès de deux boulangeries différentes à Paris et à Versailles appartenant au même groupe. Des prélèvements de salive ont été réalisés 30 min, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h et 10 h après ingestion du sandwich, les prélèvements ont été réalisés avec des écouvillons FLOQSwabs™ utilisés par les forces de l'ordre en France pour la confirmation du dépistage salivaire des stupéfiants. Le sujet 11 n'a pas pu réaliser de prélèvement salivaire. Des prélèvements d'urine ont également été réalisés 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 10 h, 18 h, 24 h, 30 h et 48 h après ingestion du sandwich. Suite aux premiers résultats de l'analyse urinaire après consommation d'une baguette, un temps de recueil plus précoce a été ajoutée à 1H et les recueils se sont poursuivis jusqu'à 48 heures. Devant la présence d'effets cliniques chez certains sujets, le sujet 3 a souhaiter réaliser des prélèvements sanguins à 1 h, 2 h et 3,5 h après ingestion d'un sandwich au pavot.

Les participants de l'étude sont des volontaires sains, recrutés au sein du laboratoire et ayant acceptés de signer un consentement écrit. Les caractéristiques des différents participants de l'étude sont résumées dans le tableau 1.

### **3) Analyse des graines de pavot**

Une prise d'essai de 50 mg de graines a été récupérée sur une baguette de pain au pavot. Ces graines ont été mises en solution dans 50 mL de méthanol et laissées aux ultra-sons pendant 4 h. Deux cents  $\mu\text{L}$  de cette solution ont été évaporés et repris dans 200  $\mu\text{L}$  d'un mélange tampon formiate 2 mM/acétonitrile puis analysés par chromatographie liquide haute performance couplée à un spectromètre de masse haute résolution de type Orbitrap Q-Exactive<sup>®</sup> (LC-HRMS, ThermoFisher Scientific, Les Ulis, France) selon la méthode précédemment publiée par Fabresse. *et al.* (7).

Les molécules identifiées ont ensuite été quantifiées. Deux cents  $\mu\text{L}$  de la solution méthanolique ont été prélevés auxquels ont été ajoutés 20  $\mu\text{L}$  de morphine et de codéine deutérées. Ce mélange est ensuite évaporé et remis en solution par 200  $\mu\text{L}$  d'un mélange tampon formiate/acétonitrile et transféré dans un vial. L'échantillon est injecté dans un système chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS/MS). Les analytes sont séparés sur une colonne Hypersil GOLD PFP (100 mm x 2,1 mm, 3  $\mu\text{m}$ , ThermoFisher Scientific, Les Ulis, France), et analysés en mode *selective reaction monitoring* (SRM) sur un spectromètre de masse de type triple quadrupôle TSQ Endura<sup>®</sup> (ThermoFisher Scientific, Les Ulis, France). La limite de quantification est de 10 mg/kg et linéaire jusqu'à 500 mg/kg. Les caractéristiques de toutes les molécules analysées dans l'étude sont indiquées dans le tableau 2.

#### **4) Analyse des urines**

##### **a. Dépistage immunochimique dans l'urine**

Un dépistage urinaire a été réalisé chez 5 sujets (numéros 7 à 11). L'analyse a été effectuée sur un automate d'immuno-analyse EXL Dimension (Siemens, Allemagne) avec le réactif

Flex® OPI (Siemens, Allemagne). Le volume d'échantillon d'urine utilisé est de 12 µL et le seuil de positivité fixé à 300 ng/mL.

#### **b. Confirmation et quantification en spectrométrie de masse dans l'urine**

Vingt-cinq µL d'échantillon d'urine sont transférés dans un tube Eppendorf® et dilués avec 125 µL d'un mélange tampon formiate 10 mM / méthanol (3:2 ; v:v) en présence d'un mélange d'étalons internes deutérés. L'échantillon dilué est ensuite transféré dans un vial et 20 µL sont injectés dans le système LC-MS/MS. Les analytes sont séparés sur une colonne Hypersil GOLD PFP (100 mm x 2,1 mm, 1,9 µm, ThermoFisher Scientific, Les Ulis, France), et analysés en mode SRM sur un spectromètre de masse tandem de type triple quadrupôle TSQ Endura® (ThermoFisher Scientific, Les Ulis, France). Deux transitions sont recherchées pour chaque molécule. Les molécules recherchées et quantifiées sont la morphine, la morphine-3β-glucuronide, la codéine, la codéine-6β-glucuronide, la noscapine, la papavérine, la laudanosine et la thébaïne. Lors de l'absorption initiale des baguettes, seules la codéine et la morphine (et leurs glucuronides) ont été quantifiés. Les étalons internes utilisés sont la morphine-D3, la codéine-D3 et la morphine-3β-glucuronide-D3. La méthode est validée selon les critères de l'EMA (8) et accréditée COFRAC pour la morphine et la codéine. La limite de quantification est de 5 ng/mL avec une gamme linéaire jusqu'à 5000 ng/mL. La morphine totale a été déterminée par cumul de la morphine-3β-glucuronide et de la morphine libre en prenant en compte les ratios molaires des deux molécules. De même, la codéine totale a été déterminée par cumul de la codéine-6β-glucuronide et de la codéine libre.

#### **c. Screening des urines en spectrométrie de masse haute résolution**

Afin de mettre en évidence des biomarqueurs spécifiques d'une exposition aux graines de pavot discriminant d'une prise d'héroïne, les urines (T4h) des 6 sujets ayant consommé une baguette aux graines de pavot ont été comparées (1) aux urines de ces mêmes sujets avant

ingestion (T<sub>0</sub>) et (2) aux urines de 3 patients ayant consommé de l'héroïne et non des graines de pavot. L'objectif est de mettre en évidence les marqueurs spécifiques d'une consommation de graine de pavot et d'une prise d'héroïne. La comparaison des urines T4h avec leurs propres témoins à T<sub>0</sub> permet de s'affranchir des différents composants endogènes. Les urines ont été analysées en suivant une approche métabolomique. L'ensemble des échantillons ont été mélangés pour constituer des contrôles de qualité (CQ) injectés tous les 4 échantillons. La méthode de traitement d'échantillon et d'analyse chromatographique correspond à celle décrite par Danso D. *et al.* (9). Brièvement, une prise d'essai de 100 µL d'urine est diluée au 10<sup>ème</sup> dans de l'eau acidifiée (acide formique 0,5%) puis 10 µL sont injectés sur une colonne Kinetex Polar C18 (100mm x 2,1mm, 2,6 µm, Phenomenex, Le Pecq) avant d'être analysés en LC-HRMS en mode DDMS2. Les données ont ensuite été analysées avec le logiciel Compound Discoverer 2.1 (ThermoFisher Scientific, Les Ulis, France). Pour la correction de la dérive analytique, les aires et les temps de rétention de l'ensemble des analytes détectés ont été corrigés à partir des CQ. Les ions présentant un ratio signal sur bruit inférieur à 3 n'ont pas été pris en compte pour l'analyse. Les ratios d'aires  $\frac{\text{Aire T4h}}{\text{Aire T0h}}$  et  $\frac{\text{Aire héroïnomanes}}{\text{Aire T4h}}$  de l'ensemble des ions ont été normalisés en Log2 et analysés par analyse différentielle ANOVA.

## 5) Recherche salivaire

Les analyses salivaires ont été effectuées selon une méthode précédemment publiée (10). Brièvement, les écouvillons sont déchargés dans 2 mL de tampon Quantisal® (Immalysis, USA) en présence d'un mélange d'étalons internes deutérés. Une extraction sur phase solide est ensuite réalisée sur des colonnes STRATA-X DRUG B (Phenomenex, Le Pecq, France). Les extraits sont analysés sur un système LC-MS/MS. Les analytes sont séparés sur une colonne Hypersil GOLD (100 mm x 2,1 mm, 1,9 µm, ThermoFisher Scientific, Les Ulis, France), et analysés en mode SRM sur un spectromètre de masse tandem de type triple

quadrupôle TSQ Endura® (ThermoFisher Scientific, Les Ulis, France). Il s'agit d'une méthode uniquement qualitative. La limite de détection est de 1 ng/mL.

## **6) Dosage dans le plasma**

Les analyses ont été réalisées sur une prise d'essai de 200 µL de plasma. Après précipitation des protéines par 20 µL de sulfate de zinc 1 M, 30 µL du surnageant sont injectés sur un système d'extraction en ligne TurboFlow® (ThermoFisher Scientific, Les Ulis, France) et extraits sur une colonne de type Cyclone Max (ThermoFisher Scientific, Les Ulis, France). La séparation chromatographique est ensuite effectuée par un gradient tampon formiate 2mM 0,1% d'acide formique/acétonitrile sur une colonne Hypersil GOLD (100 mm x 2,1 mm, 3 µm, Thermo, USA). La limite de quantification est de 5 ng/mL, et la gamme est linéaire jusqu'à 500 ng/mL. La méthode est accréditée COFRAC.

## **Résultats**

### **1) Analyse des graines de pavot**

Une baguette entière pèse environ 260 g et contient approximativement 15 g de graines de pavot. La baguette est recouverte de façon presque intégrale de graines de pavot. L'analyse des graines récupérées sur la baguette a montré la présence de morphine, codéine, thébaine, laudanosine et noscapine (Figure 1). Il n'a pas été retrouvé de papavérine. Les concentrations sont indiquées dans le tableau 3.

### **2) Analyse des urines**

#### **a. Dépistage immunochimique dans l'urine**

L'ensemble des sujets a été dépisté positif après avoir consommé un sandwich aux graines de pavot. La durée de la positivité du dépistage est variable selon les sujets, elle est présentée sur la Figure 2.

## **b. Confirmation en spectrométrie de masse dans l'urine**

### **i. Après ingestion d'une baguette**

Les concentrations moyennes de morphine et de codéine totales observées dans l'urine après ingestion d'une baguette entière sont regroupées dans le tableau 4. Il est à noter que le sujet n°6 n'a pas consommé la totalité de la baguette en raison d'un malaise (ingestion de 200g de baguette).

### **ii. Après ingestion d'un sandwich**

Les concentrations moyennes d'alcaloïdes observées dans l'urine après ingestion d'un sandwich sont présentées dans le tableau 4.

### **iii. Screening des urines en spectrométrie de masse haute résolution**

Les résultats des deux analyses comparatives sont présentés dans le tableau 5.

## **c. Analyses salivaires**

La durée de positivité des échantillons aux seuils de 1 ng/mL et 10 ng/mL pour les 4 alcaloïdes testés est présentée en Figure 3. Les différents alcaloïdes sont restés détectables jusqu'à 10 h chez tous les sujets sauf pour le sujet 7 où seule la morphine était détectable uniquement durant la première heure. La papavérine et la noscapine n'ont pas été détectées dans la salive (limite de détection 1 ng/mL).

## **d. Analyses plasmatiques**

Les concentrations retrouvées dans le plasma après ingestion d'un sandwich au pavot chez le sujet 3 sont présentées dans le tableau 6.

## **Discussion**

Notre étude a permis de mettre en évidence la présence de morphine et de codéine à concentration significative dans les graines de pavot retrouvées sur du pain et des sandwiches issus du commerce. Récemment, Lopez *et al.* ont analysé 41 échantillons de graines de pavot provenant d'Allemagne (n=8), de Hollande (n=32) et d'Italie (n=1). Ils ont mis en évidence des concentrations allant de 0,2 à 241 mg/kg pour la morphine et de < 0,1 à 348 mg/kg pour la codéine (11). Powers D. *et al.* ont analysé 22 échantillons de thé aux graines de pavot, les concentrations en morphine variaient de <1 à 2788 mg/kg pour la morphine, <1 à 248 mg/kg pour la codéine et <1 à 124 mg/kg pour la thébaine (12). Ces études mettent en avant des concentrations très variables en alcaloïdes selon les lots de graines analysés. Les concentrations retrouvées dans notre étude demeurent élevées en comparaison à celle retrouvées dans la littérature (morphine : 530 mg/kg, codéine : 80 mg/kg). Deux autres prises d'essai de 50 mg et 20 mg réalisées sur les graines de pavot analysées ont confirmé des concentrations élevées en morphine avec 510 mg/kg et 600 mg/kg, même si une certaine variabilité semble exister en fonction des graines. Différents procédés ont été évalués afin de limiter la contamination des graines par les alcaloïdes du pavot. Meadway *et al.* ont évalué la teneur d'échantillons bruts de graines de pavot (Australie, Hollande et Turquie) sans traitement (morphine : 0,6-11,9 mg/kg), après tamisage (morphine : 1,0-5,3 mg/kg) et après être passées au four 20 min (morphine : 0,1-11,9 mg/kg) (5). Les méthodes les plus efficaces retenues par l'EFSA sont le lavage, le trempage et le chauffage (4). Considérant que la plus faible dose active de morphine est de 30 µg/kg de poids chez un adulte et prenant en compte

un facteur d'incertitude de 3, le rapport du groupe CONTAM de l'EFSA préconise une dose à ne pas dépasser de 10 µg/kg de poids (4).

Après consommation d'un sandwich aux graines de pavot, la dose de morphine absorbée est d'environ 4 mg, correspondant donc à une dose de 57 µg/kg chez un sujet de 70 kg, soit une dose pratiquement 6 fois supérieure à la dose maximale préconisée par l'EFSA. Dans la salive, la morphine reste supérieure à 1 ng/mL, limite de détection de notre méthode utilisée en routine dans un cadre médicolégal, jusqu'à 10 heures (dernier temps de l'expérimentation) chez 7/8 sujets. L'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 (13) a fixé à 10 ng/mL le seuil que doivent atteindre les laboratoires, cependant, des concentrations plus faibles peuvent être considérés comme positives selon la méthode utilisée par le laboratoire effectuant l'analyse d'autant que les résultats ne sont que qualitatifs (positif ou négatif). Un individu pourra donc être considéré comme positif aux opiacés après un contrôle routier jusqu'à 10 heures après l'ingestion d'un sandwich aux graines de pavot. Une étude similaire avait été réalisée par Carlin *et al.* chez 6 volontaires après ingestion de deux muffins au pavot, des échantillons salivaires avaient été prélevés à 5 min, 20 min, 1 h, 2 h, 4 h et 8 h (14). La morphine avait été détectée uniquement dans l'échantillon prélevé à 5 min chez 5/6 des participants à des concentrations estimées entre 0,5 et 0,8 ng/mL. Samano K.L. *et al.* (15) ont évalué les concentrations salivaires après ingestion de 15 g de graines de pavot (3,2 mg de morphine) chez 6 sujets, les concentrations observées en morphine variaient de 7 à 600 ng/mL et restaient supérieures à 7,5 ng/mL jusqu'à 3 h. Ces résultats sont en accord avec nos observations (> 10 ng/mL à 3 h chez 3 sujets), mais notre LOD plus basse permet de détecter la morphine salivaire jusqu'à 10 h. La LOD du test DrugWipe 5S (Securetec, Munich, Germany) utilisé pour le dépistage salivaire des stupéfiants par les forces de l'ordre en France est au minimum de 10 ng/mL pour la morphine (16), mais compte tenu des réactions croisées

avec les autres alcaloïdes présents, il est probable que le dépistage reste positif 3 à 10 heures après la consommation d'un sandwich.

Des concentrations importantes de morphine et de codéine ont également été mises en évidence dans les urines des participants de l'étude. Ces concentrations sont supérieures au seuil légal de 300 ng/mL appliqué sur les automates d'immuno-analyse utilisés pour le dépistage des opiacés et peuvent être à l'origine d'erreurs d'interprétation sur la consommation d'opiacés, et notamment d'héroïne des personnes dépistées (13). Les concentrations moyennes de morphine restent supérieures à 300 ng/mL jusqu'à T18 h. Meadway *et al.* ont évalué les concentrations urinaires après ingestion d'une, deux ou trois tranches de gâteau au graines de pavot fortement contaminées, les concentrations de morphine totale étant comprises entre 251 et 9919 ng/mL et entre 4,9 et 147 ng/mL pour la codéine totale (5). Ces concentrations urinaires sont proches de celles observées dans notre étude.

Le dosage des opiacés dans le plasma n'a été réalisé que sur un des sujets de l'étude après consommation d'un sandwich. Il a cependant montré que la morphine était détectable à une concentration considérée comme thérapeutique (18 et 19 ng/mL). Hayes *et al.* ont mesuré les concentrations de morphine libre chez deux sujets après ingestion de 40 g de graines de pavot contenant  $63 \pm 15$  mg/kg de morphine, les concentrations maximales observées à 3 h étaient de 2,5 et 3 ng/mL (17). Bien que nos données ne concernent qu'un seul sujet, elles mettent en évidence la présence de morphine à concentration plasmatique considérée comme thérapeutique et par conséquent pharmacologiquement active dans l'organisme au moins durant 3,5h. Il existe plusieurs cas d'intoxication à la suite de l'ingestion de graines de pavot décrits dans la littérature, notamment sous forme d'infusion (18). Un cas d'intoxication sévère a également été décrit chez un enfant à qui la mère avait donné une infusion de graine de pavot dans du lait pour l'aider à dormir (19). L'enfant présentait une symptomatologie typique d'intoxication aux opiacés avec diminution de la conscience et dépression respiratoire

ayant nécessité une ventilation au masque. Au cours de notre étude réalisée sur baguette entière, un des sujets n'a pas pu finir sa baguette de pavot en raison d'un malaise. Le sujet a décrit les symptômes suivants : rougeur, troubles de la vision, confusion. Un second sujet a décrit des symptômes similaires avec notamment des difficultés de concentration. Les symptômes ont disparu au bout de quelques heures. Pour cette raison, ces deux sujets n'ont pas participé à l'étude sur le sandwich. La présence de ces alcaloïdes à forte concentration peut donc avoir des conséquences importantes sur la santé : malaise, diminution de la capacité à effectuer des tâches nécessitant une attention particulière telle que la conduite automobile, mais aussi des conséquences médico-légales : retrait de permis, inaptitude à des postes de sécurité dans les entreprises lors de contrôles sur le lieu de travail.

L'approche par analyse métabolomique des urines a permis de mettre en évidence des biomarqueurs permettant de discriminer une exposition aux graines de pavot d'une exposition à l'héroïne. Elle a confirmé que la présence de noscapine et/ou de 6-acetylmorphine est toujours en faveur d'une prise d'héroïne. Elle a également confirmé que la présence de thébaïne, déjà décrit dans la littérature (20), est le reflet d'une prise de graines de pavot. En effet, la thébaïne contenue dans le pavot est transformée en thébaol et en acetylthébaol par l'anhydride acétique lors de la synthèse d'héroïne, d'où son absence dans les urines d'héroïnomanes (21). La thébaïne a toutefois été absente chez un sujet durant tout le temps de l'étude. Cependant, il s'agit du sujet 7 pour lequel la morphine n'a été détectée dans la salive que la première heure et à une concentration faible, inférieure à 10 ng/mL. Ce sujet présente également des concentrations urinaires de morphine et codéine parmi les plus faibles de l'étude. La dose de pavot n'ayant pas été totalement standardisée, il est probable que le sujet 7 ait ingéré une quantité de graine de pavot plus faible que les autres sujets de l'étude, expliquant ainsi ces résultats. Par ailleurs, pour la première fois, nous rapportons deux nouveaux biomarqueurs, qui sont ici les plus discriminants entre les deux groupes, l'O-

desméthylaudanosine glucuronide ( $p=0,009$ ) et le 6-O-desmethylthébaïne glucuronide ( $p=0,0002$ ). Il n'existe actuellement pas de standard commercialisé pour ces deux dernières molécules.

Malgré un nombre limité de participants, notre étude a montré que la consommation de certains produits à base de graines de pavot pouvait entraîner la présence de morphine et de codéine à forte concentration dans les urines des participants. Les résultats observés sont cohérents avec la littérature existante sur le sujet et permettent de confirmer les dires de certains employés testés positifs tout en soulevant la problématique de la contamination salivaire et de ses conséquences médico-légales possible.

## **Conclusion**

Notre étude a montré la présence de morphine et de codéine en quantité très importante dans certains pains aux graines de pavot trouvés dans le commerce. Ces concentrations, bien supérieures aux recommandations de l'EFSA, peuvent avoir des conséquences majeures pour le patient, notamment dans un cadre médico-légal ou de médecine du travail, mais également présenter des risques pour la santé sur les populations les plus fragiles telles que les jeunes enfants, les personnes âgées ou les femmes enceintes.

La recherche de thébaïne devrait être réalisée systématiquement lors de la recherche d'opiacés dans le sang, les urines et la salive afin de faciliter l'interprétation des résultats.

Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêt.

## **Bibliographie :**

1. Chouvy P-A. Le pavot à opium et l'homme. Origines géographiques et premières diffusions d'un cultivar.// The opium poppy and mankind. Geographic origins and early diffusion of a cultivar. *Ann Géographie*. 2001;110(618):182-94.
2. Beaudoin GAW, Facchini PJ. Benzylisoquinoline alkaloid biosynthesis in opium poppy. *Planta*. juill 2014;240(1):19-32.
3. Berényi S, Csutorás C, Sipos A. Recent developments in the chemistry of thebaine and its transformation products as pharmacological targets. *Curr Med Chem*. 2009;16(25):3215-42.
4. Opium alkaloids in poppy seeds [Internet]. European Food Safety Authority. 2011 [cité 6 mars 2019]. Disponible sur: <https://www.efsa.europa.eu/fr/efsajournal/pub/2405>
5. Meadway C, George S, Braithwaite R. Opiate concentrations following the ingestion of poppy seed products--evidence for « the poppy seed defence ». *Forensic Sci Int*. 31 août 1998;96(1):29-38.
6. Verstraete A, Deveaux M. Historique du dépistage des conduites addictives en milieu professionnel en Europe et aux États-Unis. *Ann Toxicol Anal*. 2002;14(1):3-9.
7. Fabresse N, Larabi IA, Stratton T, Mistrik R, Pfau G, Lorin de la Grandmaison G, et al. Development of a sensitive untargeted liquid chromatography-high resolution mass spectrometry screening devoted to hair analysis through a shared MS2 spectra database: A step toward early detection of new psychoactive substances. *Drug Test Anal*. 5 nov 2018;
8. European Medicines Agency. Guideline on bioanalytical method validation. 2011.
9. Danso D, Langman LJ, Jannetto PJ. Targeted Opioid Screening Assay for Pain Management Using High-Resolution Mass Spectrometry. *Methods Mol Biol Clifton NJ*. 2019;1872:41-50.
10. Fabresse N, Aouad H, Knapp A, Mayer C, Etting I, Larabi IA, et al. Development and validation of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for simultaneous detection of 10 illicit drugs in oral fluid collected with FLOQSwabs™ and application to real samples. *Drug Test Anal*. 28 déc 2018;
11. López P, Pereboom-de Fauw DPKH, Mulder PPJ, Spanjer M, de Stoppelaar J, Mol HGJ, et al. Straightforward analytical method to determine opium alkaloids in poppy seeds and bakery products. *Food Chem*. 1 mars 2018;242:443-50.
12. Powers D, Erickson S, Swortwood MJ. Quantification of Morphine, Codeine, and Thebaine in Home-Brewed Poppy Seed Tea by LC-MS/MS. *J Forensic Sci*. juill 2018;63(4):1229-35.

13. 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 | Legifrance [Internet]. 2016 [cité 1 juill 2018]. Disponible sur: <https://www.legifrance.gouv.fr/eli/arrete/2016/12/13/AFSP1636875A/jo>
14. Carlin M-G, Dean J-R, Langford A-M, Perry J-J, Roussel O, Salle S. Ingestion de graines de pavot et dépistage salivaire des opiacés : résultats d'une étude pilote. *Toxicol Anal Clin.* 1 mai 2017;29(2, Supplement):S65-6.
15. Samano KL, Clouette RE, Rowland BJ, Sample RHB. Concentrations of Morphine and Codeine in Paired Oral Fluid and Urine Specimens Following Ingestion of a Poppy Seed Roll and Raw Poppy Seeds. *J Anal Toxicol.* oct 2015;39(8):655-61.
16. Wille SMR, Samyn N, Ramírez-Fernández M del M, De Boeck G. Evaluation of on-site oral fluid screening using Drugwipe-5+®, RapidSTAT® and Drug Test 5000® for the detection of drugs of abuse in drivers. *Forensic Sci Int.* 20 mai 2010;198(1):2-6.
17. Hayes LW, Krasselt WG, Mueggler PA. Concentrations of morphine and codeine in serum and urine after ingestion of poppy seeds. *Clin Chem.* juin 1987;33(6):806-8.
18. Haber I, Pergolizzi J, LeQuang JA. Poppy Seed Tea: A Short Review and Case Study. *Pain Ther* [Internet]. 5 févr 2019 [cité 4 mars 2019]; Disponible sur: <https://doi.org/10.1007/s40122-019-0113-5>
19. Bundesinstitut für Risikobewertung. Cases of poisoning reported by physicians [Internet]. 2005 [cité 8 mars 2019]. Disponible sur: [https://mobil.bfr.bund.de/cm/364/cases\\_of\\_poisoning\\_reported\\_by\\_physicians\\_2005.pdf](https://mobil.bfr.bund.de/cm/364/cases_of_poisoning_reported_by_physicians_2005.pdf)
20. Mulé SJ, Casella GA. Rendering the « poppy-seed defense » defenseless: identification of 6-monoacetylmorphine in urine by gas chromatography/mass spectroscopy. *Clin Chem.* juill 1988;34(7):1427-30.
21. Maas A, Madea B, Hess C. Confirmation of recent heroin abuse: Accepting the challenge. *Drug Test Anal.* janv 2018;10(1):54-71.

## Légende

Figure 1. Chromatogrammes obtenus avec les graines de pavot. A : morphine, B : codéine, C : thébaïne, D : laudanosine, E : noscapine.

Figure 2. Durée de positivité du dépistage immunochimique aux opiacés dans les urines (seuil de positivité de 300 ng/mL)

Figure 3. Durée de positivité salivaire des opiacés, en fonction du seuil de détection de notre méthode (1 ng/mL) pour chacun des 4 alcaloïdes recherchés. Papavérine et noscapine non détectées.

Tableau 1. Caractéristiques des participants à l'étude.

Tableau 2. Transitions et temps de rétention des molécules recherchées.

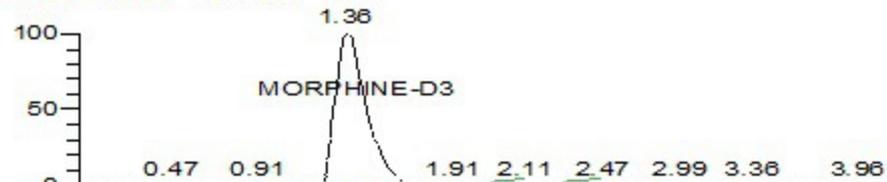
Tableau 3. Concentrations en alcaloïdes retrouvées dans les graines de pavot, baguette et sandwich (ND : non détecté)

Tableau 4 Concentrations urinaires moyennes en alcaloïdes du pavot après ingestion d'un sandwich ou d'une baguette aux graines de pavot en ng/mL  $\pm$  écart-type (valeur min-valeur max). ). Thébaïne, laudanosine non recherchées pour la baguette, noscapine et papavérine non détectées.

Tableau 5. Molécules présentant une différence significative de ratio d'aires entre les deux groupes d'échantillons analysés; les résultats sont exprimés en log<sub>2</sub> du ratio.

Tableau 6. Concentrations retrouvées dans le plasma après ingestion d'un sandwich au pavot chez le sujet 1.

RT: 0.00 - 10.00 SM: 5G

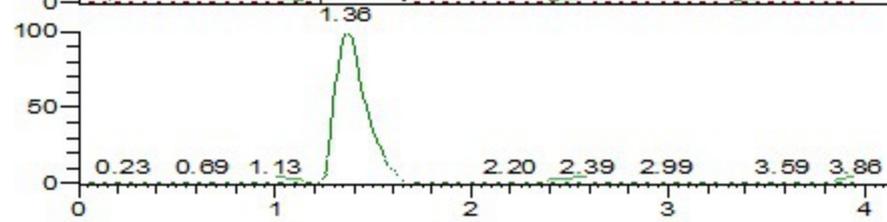


NL: 4.26E5  
m/z= 164.60-165.60 F: + c ESI SRM ms2  
289.000 [164.999-165.001,  
201.099-201.101] MS pavot-pur

A



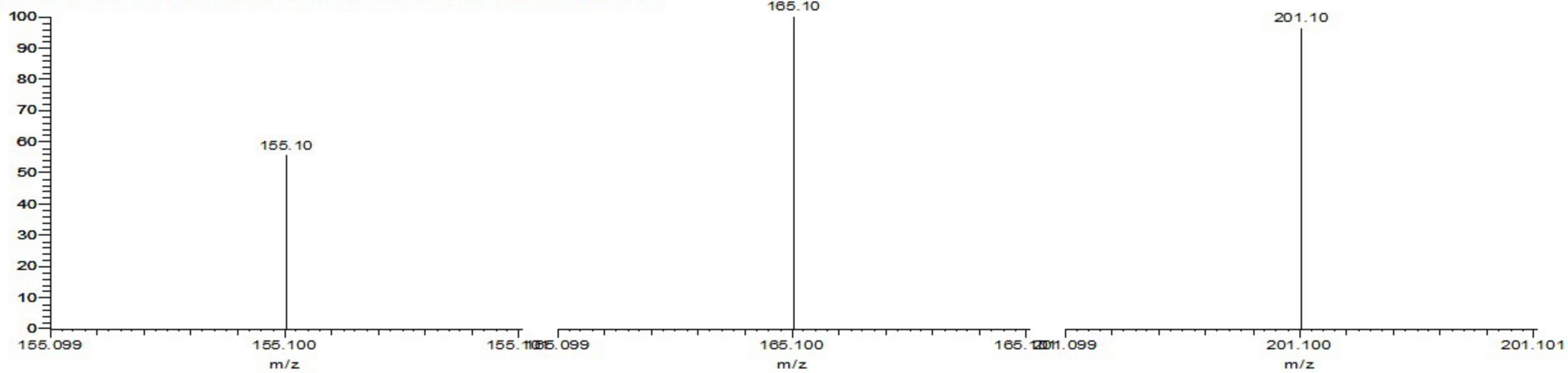
NL: 2.33E6  
m/z= 164.60-165.60 F: + c ESI SRM ms2  
286.100 [155.099-155.101,  
165.099-165.101, 201.099-201.101] MS  
pavot-pur



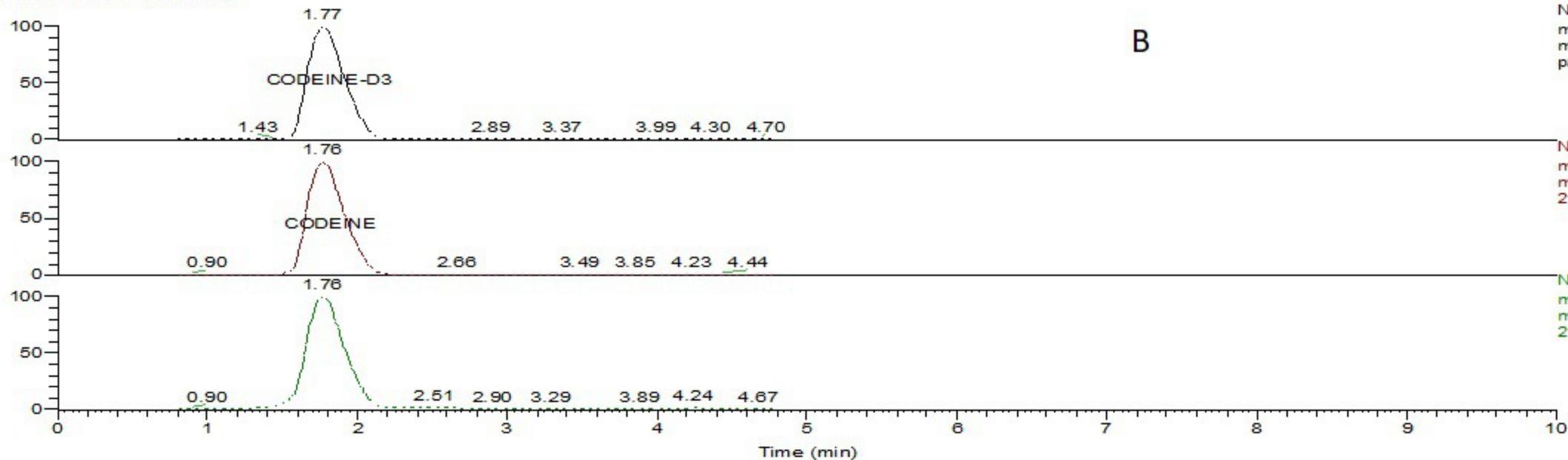
NL: 2.24E6  
m/z= 200.60-201.60 F: + c ESI SRM ms2  
286.100 [155.099-155.101,  
165.099-165.101, 201.099-201.101] MS  
pavot-pur

Time (min)

pavot-pur #441 RT: 1.36 AV: 1 NL: 2.35E6  
F: + c ESI SRM ms2 286.100 [155.099-155.101, 165.099-165.101, 201.099-201.101]



RT: 0.00 - 10.00 SM: 15G

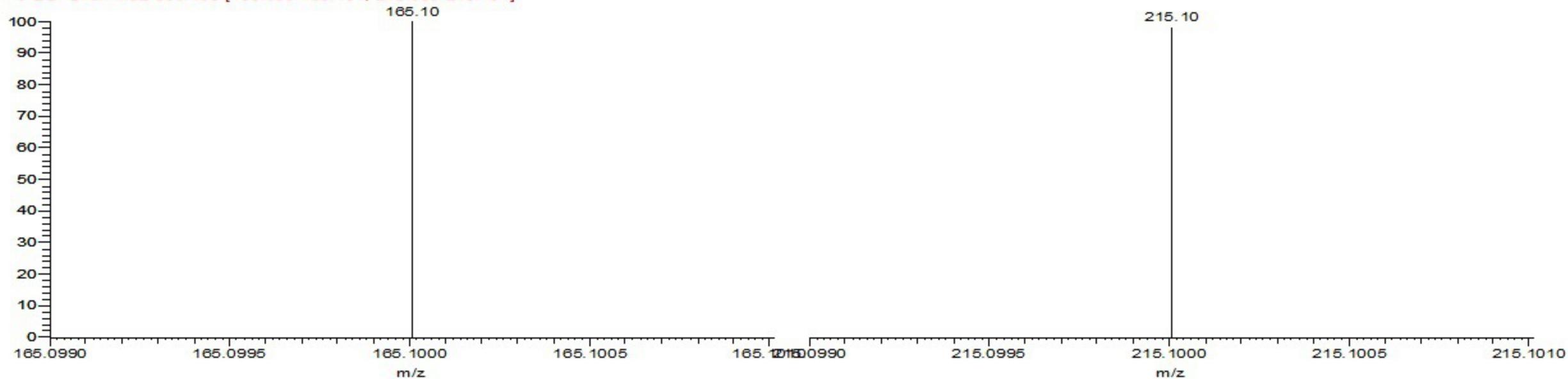


NL: 9.28E5  
m/z= 214.60-215.60 F: + c ESI SRM  
ms2 303.100 [215.099-215.101] MS  
pavot-pur

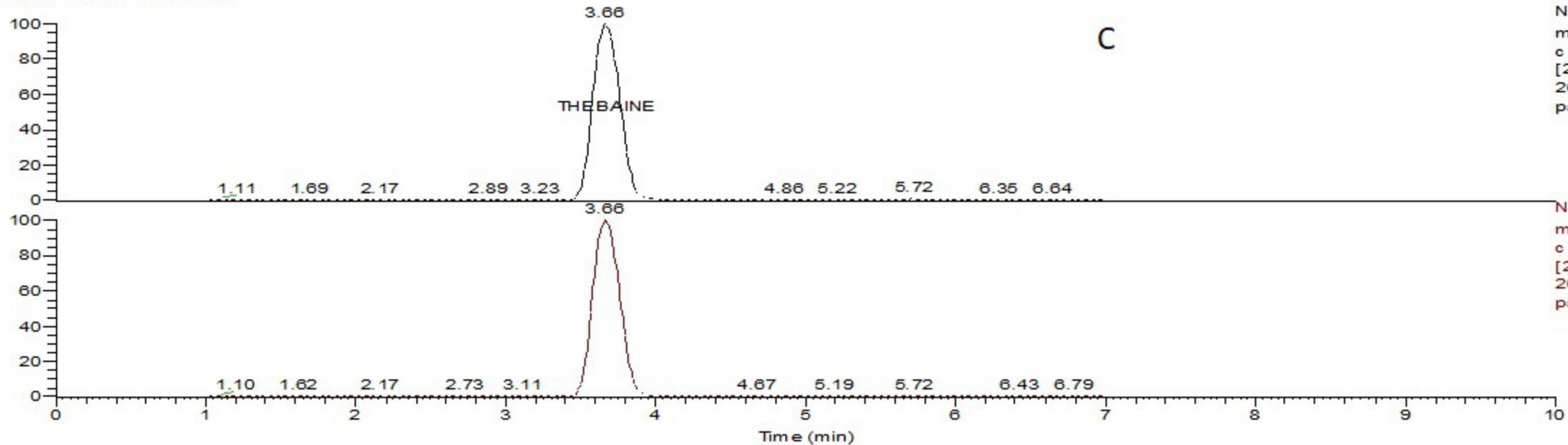
NL: 4.39E5  
m/z= 214.60-215.60 F: + c ESI SRM  
ms2 300.100 [165.099-165.101,  
215.099-215.101] MS pavot-pur

NL: 4.44E5  
m/z= 164.60-165.60 F: + c ESI SRM  
ms2 300.100 [165.099-165.101,  
215.099-215.101] MS pavot-pur

pavot-pur #725 RT: 1.83 AV: 1 NL: 4.10E5  
F: + c ESI SRM ms2 300.100 [165.099-165.101, 215.099-215.101]



RT: 0.00 - 10.00 SM: 15G

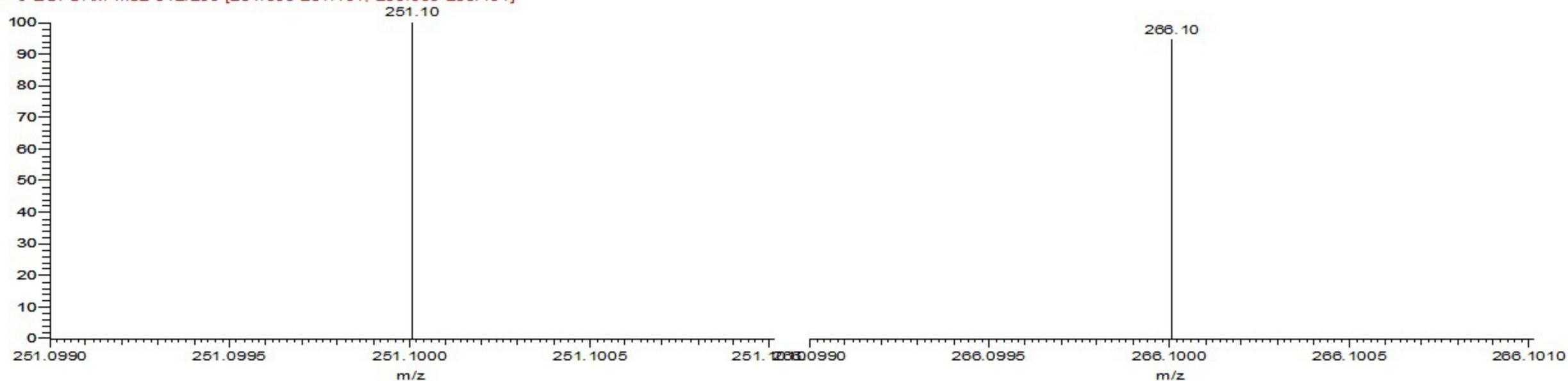


NL: 2.59E6  
m/z= 250.50-251.50 F: +  
c ESI SRM ms2 312.200  
[251.099-251.101,  
266.099-266.101] MS  
pavot-pur

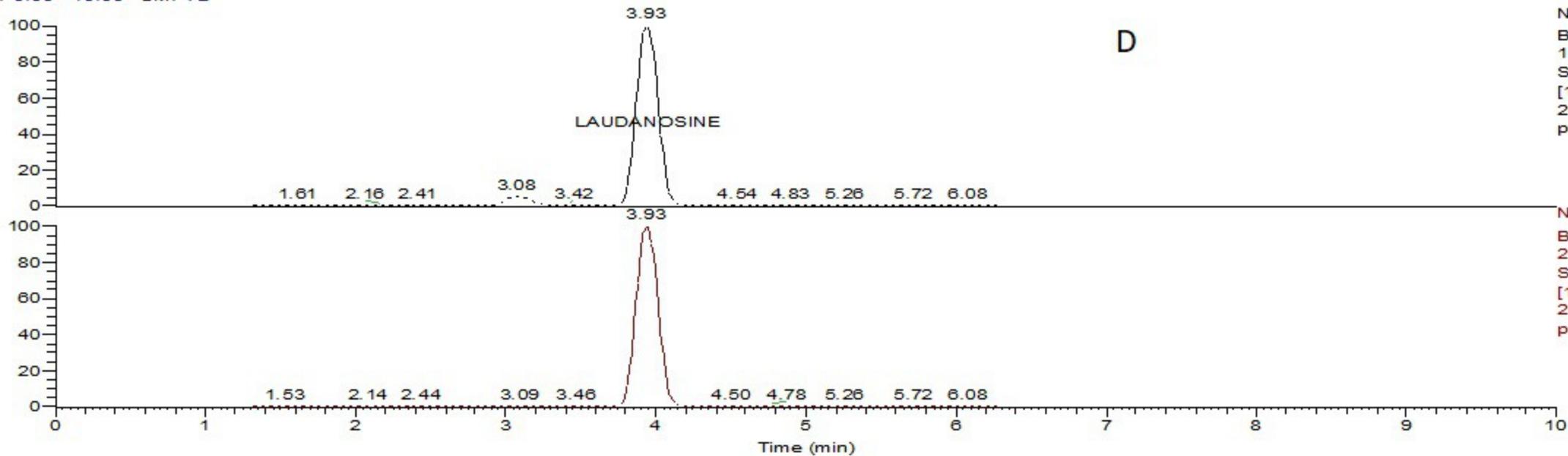
NL: 2.44E6  
m/z= 265.60-266.60 F: +  
c ESI SRM ms2 312.200  
[251.099-251.101,  
266.099-266.101] MS  
pavot-pur

pavot-pur #1960 RT: 3.66 AV: 1 NL: 2.75E6

F: + c ESI SRM ms2 312.200 [251.099-251.101, 266.099-266.101]



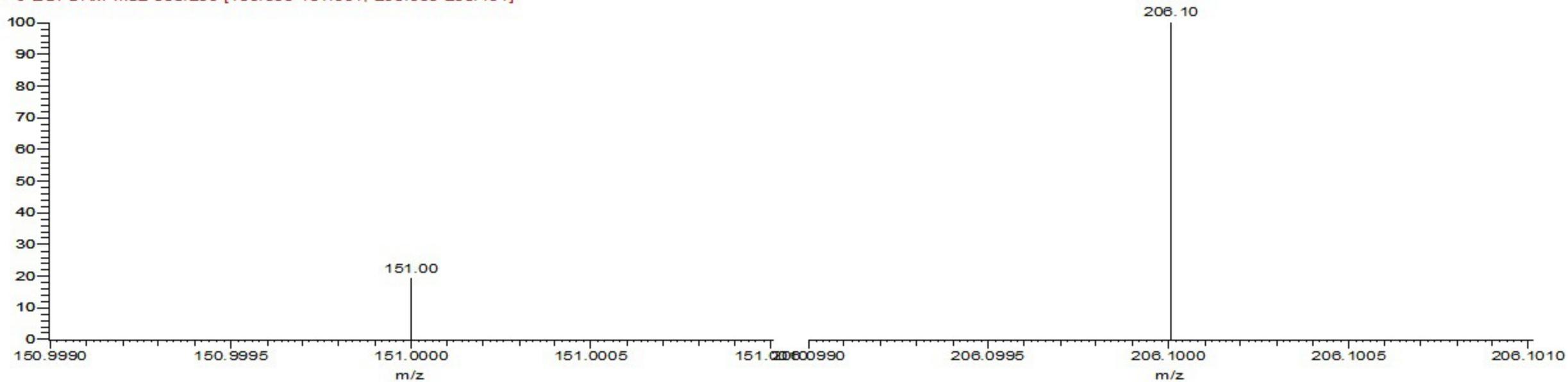
RT: 0.00 - 10.00 SM: 7B



NL: 4.86E5  
Base Peak m/z =  
150.50-151.50 F: + c ESI  
SRM ms2 358.200  
[150.999-151.001,  
206.099-206.101] MS  
pavot-pur

NL: 2.55E6  
Base Peak m/z =  
205.60-206.60 F: + c ESI  
SRM ms2 358.200  
[150.999-151.001,  
206.099-206.101] MS  
pavot-pur

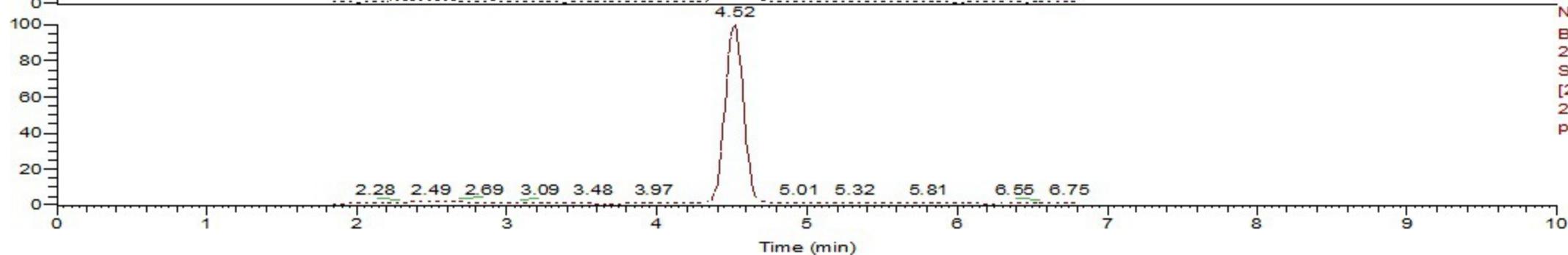
pavot-pur #2142 RT: 3.93 AV: 1 NL: 2.69E6  
F: + c ESI SRM ms2 358.200 [150.999-151.001, 206.099-206.101]



RT: 0.00 - 10.00 SM: 7B

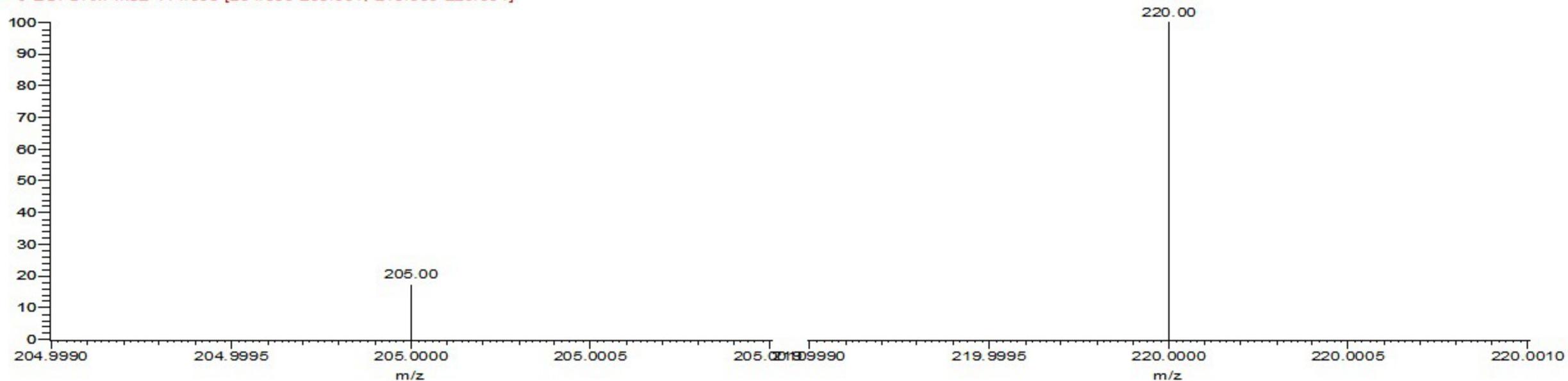


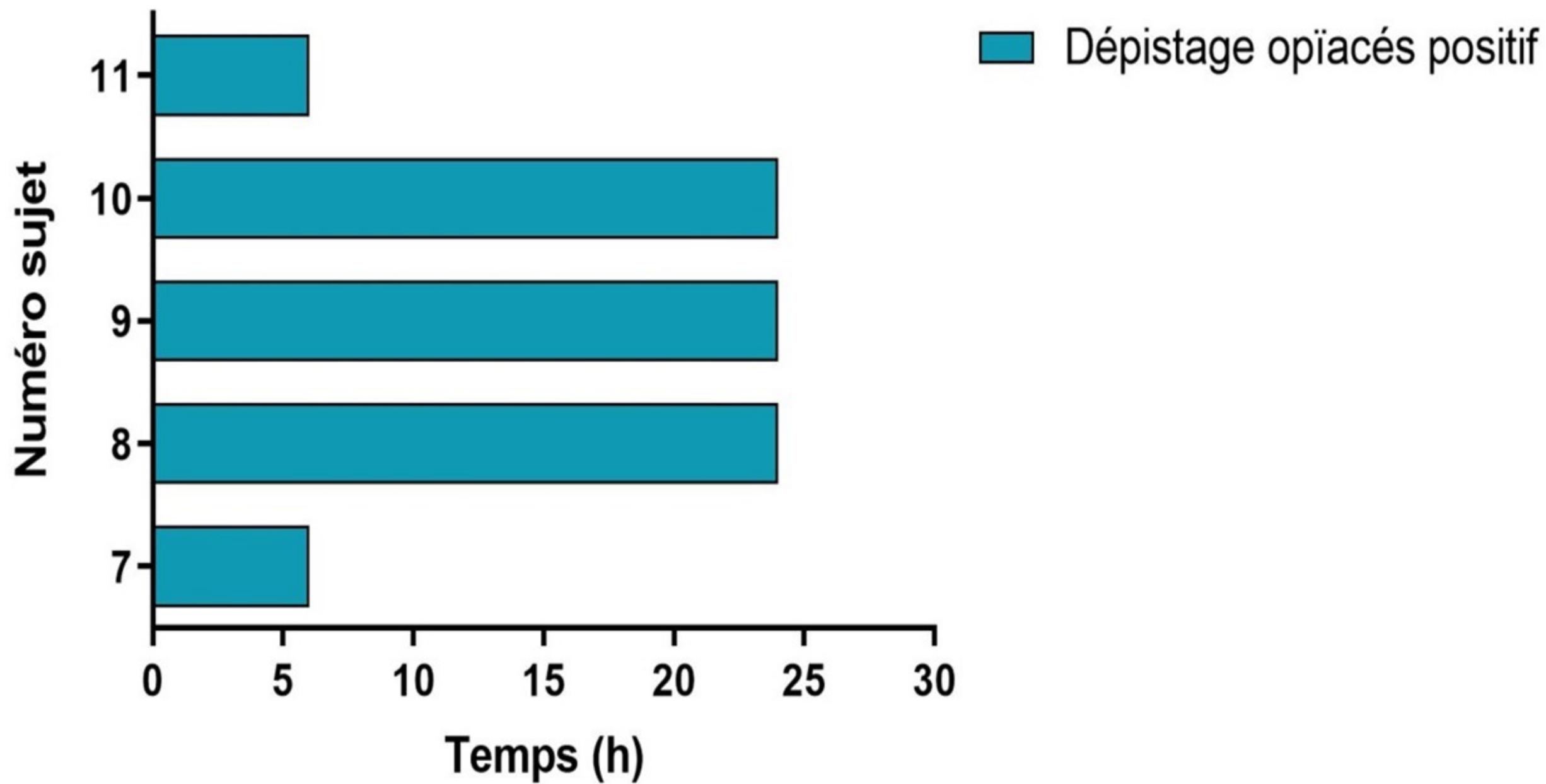
NL: 1.84E4  
Base Peak m/z =  
204.50-205.50 F: + c ESI  
SRM ms2 414.000  
[204.999-205.001,  
219.999-220.001] MS  
pavot-pur

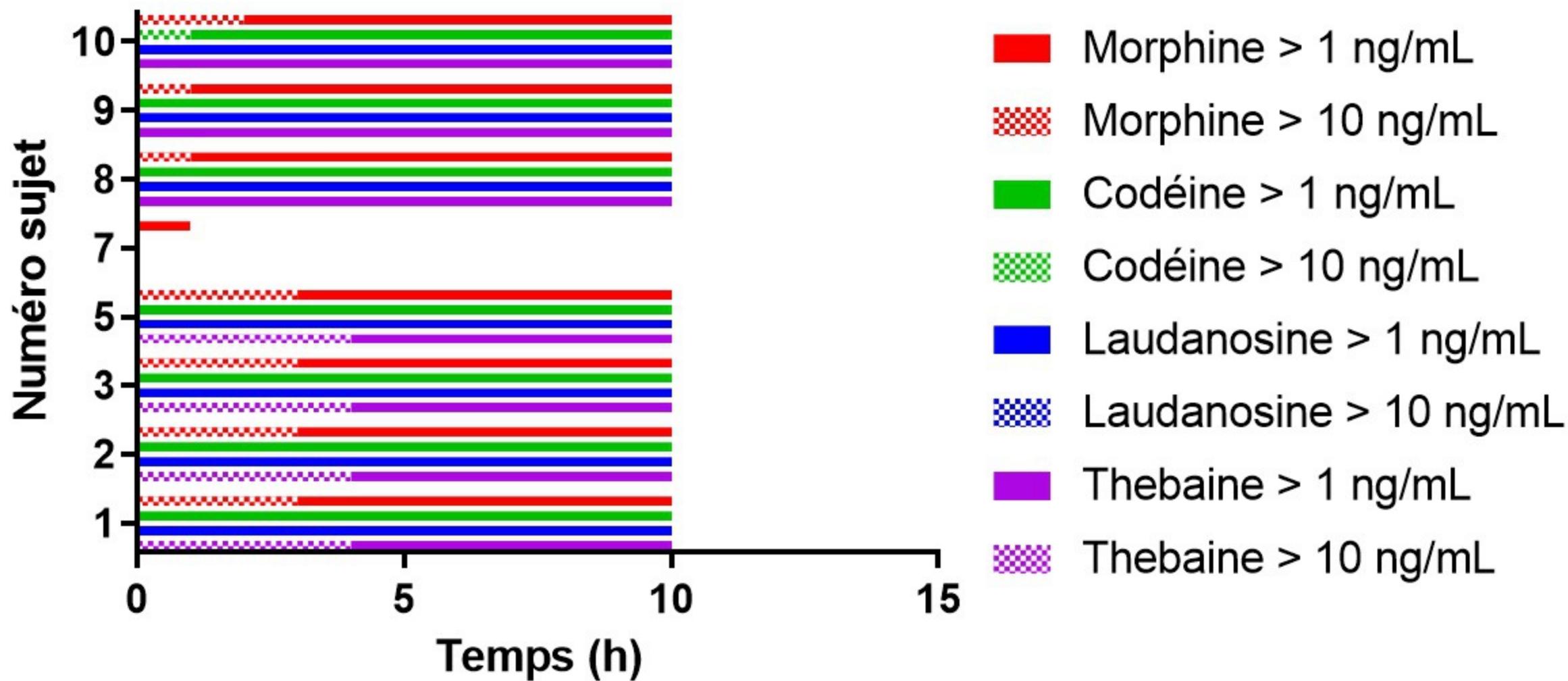


NL: 1.09E5  
Base Peak m/z =  
219.50-220.50 F: + c ESI  
SRM ms2 414.000  
[204.999-205.001,  
219.999-220.001] MS  
pavot-pur

pavot-pur #2469 RT: 4.53 AV: 1 NL: 1.14E5  
F: + c ESI SRM ms2 414.000 [204.999-205.001, 219.999-220.001]







Numéro du sujet	Sexe	Age (années)	Poids (Kg)	Date d'achat de la baguette	Date d'achat du sandwich	Boulangerie
1	M	30	75	03/12/2018	12/02/2019	Versailles
2	F	33	55	03/12/2018	12/02/2019	Versailles
3	M	54	80	10/12/2018	12/02/2019	Versailles
4	M	34	90	10/12/2018	-	Versailles
5	F	26	62	11/12/2018	12/02/2019	Versailles
6	F	51	95	11/12/2018	-	Versailles
7	F	35	56	-	11/02/2019	Paris
8	F	48	55	-	12/02/2019	Paris
9	F	34	70	-	12/02/2019	Paris
10	M	38	72	-	12/02/2019	Paris
11	F	39	55	-	15/02/2019	Paris

Tableau 1.

Alcaloïdes	Ions parent ( <i>m/z</i> )	Ions fils ( <i>m/z</i> )	Temps de rétention (min)
Morphine-3 $\beta$ -glucuronide	462,2	201,1 286,1	1,36
Morphine	286,1	155,1 165,1	1,51
Codéine-6 $\beta$ -glucuronide	476,2	282,1 300,2	1,50
Codéine	300,1	165,1 215,1	2,03
Thébaïne	312,2	251,0 266,1	3,50
Laudanosine	358,2	151,0 206,1	4,21
Papavérine	339,9	324,1 202,0	4,14
Noscapine	414,0	205,0 220,0	4,30

Tableau 2.

Alcaloïde	Concentration dans les graines (mg/Kg graines)	Quantité évaluée sur une baguette (mg)	Quantité évaluée sur un sandwich (mg)
Morphine	530	7,95	3,98
Codéine	80	1,5	0,75
Thébaïne	300	4,5	2,25
Laudanosine	10	0,15	0,07
Noscapine	< 10	< 0,15	< 0,07
Papavérine	ND	ND	ND

Tableau 3.

Temps (h)	Morphine totale (ng/mL)		Codéine totale (ng/mL)		Thébaïne (ng/mL)	Laudanosine (ng/mL)
	Sandwich	Baguette	Sandwich	Baguette	Sandwich	Sandwich
1	617 ± 715 (91-2763)		156 ± 196 (13-548)		18 ± 18 (<5-36)	<5
2	1620 ± 1273 (67-5844)	1638 ± 523 (540-2676)	295 ± 221 (25-876)	335 ± 148 (184-562)	35 ± 28 (<5-97)	6 ± 1 (<5-8)
4	1843 ± 1507 (86-5269)	2797 ± 715 (1562-3901)	361 ± 285 (29-954)	699 ± 319 (290-1368)	30 ± 22 (<5-65)	8 ± 1 (<5-9)
6	1259 ± 993 (30-3663)	1858 ± 853 (1058-4094)	278 ± 227 (21-697)	458 ± 221 (173-1122)	48 ± 44 (<5-202)	20 ± 0 (<5-20)
8	794 ± 589 (35-2280)	1118 ± 579 (368-2855)	234 ± 147 (<5-474)	281 ± 174 (138-803)	44 ± 25 (<5-101)	7 ± 0 (<5-7)
10	484 ± 354 (48-1071)	1167 ± 611 (395-2084)	171 ± 106 (<5-404)	263 ± 182 (83-536)	46 ± 53 (<5-204)	12 ± 0 (<5-12)
18	313 ± 196 (15-667)	867 ± 665 (246-1864)	81 ± 34 (<5-138)	142 ± 142 (22-354)	26 ± 19 (<5-61)	<5
24	187 ± 107 (<5-405)		43 ± 17 (<5-73)		10 ± 10 (<5-35)	<5
30	215 ± 101 (<5-367)		29 ± 6 (<5-37)		24 ± 2 (<5-26)	<5
48	86 ± 29 (<5-129)		26 ± 14 (<5-40)		<5	ND

Tableau 4.

Molécules	Ratios d'aires:		Ratios d'aires:	
	Urines T4h / Urines T0h		Urines Héroïnomanes / Urines T4h	
	Ratios normalisés en log2	<i>p</i>	Ratios normalisés en log2	<i>p</i>
Codéine	6,3	<0,0001	2,7	>0,05
Codéine-6β-glucuronide	8,3	<0,0001	1,2	>0,05
Morphine	8,9	<0,0001	3,8	>0,05
Morphine-3β-glucuronide	10	<0,0001	3,1	<0,05
Morphine-6β-glucuronide	8,4	<0,0001	2,6	<0,05
Normorphine-glucuronide	6,0	<0,0001	3,7	<0,05
Laudanosine	5,9	<0,001	-4,0	>0,05
O-desmethyl-laudanosine-glucuronide	8,2	<0,0001	-6,1	<0,01
Thébaïne	6,3	<0,005	-4,3	<0,05
6-O-desmethylthébaïne - glucuronide	7,0	<0,0001	-5,7	<0,001
Noscapine	NA	NA	6	0,05
6-acetylmorphine	NA	NA	7,2	<0,01

Tableau 5.

Temps (h)	Morphine (ng/mL)	Morphine glucuronide (ng/mL)	Codéine (ng/mL)	Codéine glucuronide (ng/mL)
1	18	31	<5	<5
2	18	43	14	<5
3,5	19	50	23	<5

Tableau 6. Concentrations retrouvées dans le plasma après ingestion d'un sandwich au pavot chez le sujet 1.