

Filière Technologies du vivant

Orientation Chimie analytique

Travail de bachelor Diplôme 2016

Garcia Diz Katia

*Développement et optimisation d'une
méthode de détection des drogues dans des
sections tissulaires par imagerie par
spectrométrie de masse MALDI*



Professeur
Pfeifer Marc-Emil



Expert
Thomas Aurélien



Date de la remise du rapport
19 août 2016

SYND	ETE	TEVI
X	X	X

Filière / Studiengang TEVI	Année académique / Studienjahr 2015/2016	No TD / Nr. DA ca\2016\32
Mandant / Auftraggeber <input type="checkbox"/> HES—SO Valais <input type="checkbox"/> Industrie <input checked="" type="checkbox"/> Etablissement partenaire Partnerinstitution	Etudiant / Student Garcia Diz Katia Professeur / Dozent Marc E. Pfeifer	Lieu d'exécution / Ausführungsort <input type="checkbox"/> HES—SO Valais <input type="checkbox"/> Industrie <input checked="" type="checkbox"/> Etablissement partenaire Partnerinstitution
Travail confidentiel / vertrauliche Arbeit <input type="checkbox"/> oui / ja ¹ <input checked="" type="checkbox"/> non / nein	Expert / Experte (données complètes) Prof. Aurélien Thomas, UTCF-CURML, CHUV Lausanne University Hospital Unit of Toxicology, CURML Vulliette 04 1000 Lausanne 25 aurelien.thomas@chuv.ch	

Development and optimization of method for MALDI imaging mass spectrometry of drugs in tissue sections

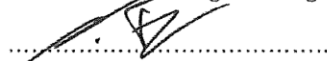
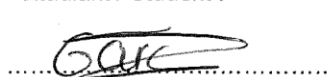
Description / Beschreibung

Imaging mass spectrometry (MS) is an emergent and innovative approach for direct analysis of tissue sections. In addition to the MS capacities for monitoring and identifying molecules, imaging MS will lead to information on the spatial location of analytes in tissues sections. To date, the technology has been mainly applied to the imaging of proteins and endogenous metabolites, but less for drugs or pharmaceuticals. The aim of this project is to develop and optimize a method for analyzing by MALDI imaging MS some drugs of interest from thin tissue sections.

Objectifs / Ziele

- To train on MALDI imaging MS technology
- To develop and optimize a method for analyzing drugs of interest in our laboratory
- To apply the method to samples from real cases

Signature ou visa / Unterschrift oder Visum

Responsable de l'orientation / filière
Leiter der Vertiefungsrichtung / Studiengang:

¹ Etudiant / Student :


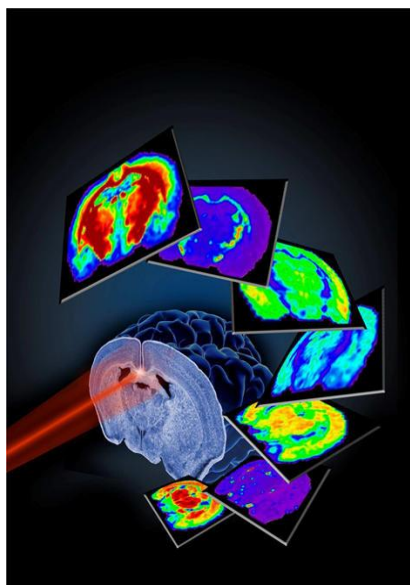
Délais / Termine

Attribution du thème / Ausgabe des Auftrags:
02.05.2016

Fin des travaux de diplôme dans les laboratoires de l'école / Ende der Diplomarbeiten in den Labors der Schule :

15.07.2016Remise du rapport / Abgabe des Schlussberichts:
19.08.2016 / 12h00Expositions / Ausstellungen der Diplomarbeiten:
02.09.2016Défense orale / Mündliche Verfechtung:
dès la semaine 35 / ab Woche 35

¹ Par sa signature, l'étudiant-e s'engage à respecter strictement la directive DI.1.2.02.07 liée au travail de diplôme.
Durch seine Unterschrift verpflichtet sich der/die Student/in, sich an die Richtlinie DI.1.2.02.07 der Diplomarbeit zu halten.



[29]

Travail de diplôme | édition 2016 |

Filière
Technologies du vivant

Domaine d'application
Chimie analytique

Professeur responsable
Pfeifer Marc-Emil
Marc.pfeifer@hevs.ch

Partenaire
Prof. Thomas Aurélien
Aurélien.Thomas @chuv.ch

CHUV – Centre universitaire
romand de médecine légale
*Unité de toxicologie et chimie
forensique (UTCF)*

Développement et optimisation d'une méthode de détection des drogues dans des sections tissulaires par imagerie par spectrométrie de masse MALDI

Diplômant/e Katia Garcia Diz

Objectif du projet

Développer et optimiser une méthode de préparation pour l'analyse par imagerie par spectrométrie de masse pour détecter et identifier différentes drogues et médicaments dans des sections de tissus animaux dopés et de cas réels humains.

Méthodes | Expériences | Résultats

L'imagerie par spectrométrie de masse est une méthode de choix pour la détection simultanée de plusieurs molécules dans des sections de tissus. La préparation de l'échantillon est le point clef de l'imagerie MALDI. Lors de ce projet, l'optimisation de la préparation a été effectuée sur un tissu de foie de rat dopé avec une solution de 14 drogues à 1 µg/ml. Les meilleures intensités pour chaque drogue ont été obtenues avec une préparation contenant comme matrice du DHB 30mg/ml dans 50% MeOH/ 50% H₂O/ 0.1% TFA et avec un lavage du tissu à l'acétate d'ammonium 0.01M à pH 10. L'imagerie de cas réels humains a été effectuée sur des tissus de foie et de cerveau de quatre personnes ayant consommé différentes drogues et médicaments. La cocaïne, la quétiapine, le midazolam et la trazodone ont été détectés avec succès avec une préparation de matrice DHB 30mg/ml dans 70% MeOH/ 30% H₂O/ 0.1% TFA. Pour l'identification, un screening toxicologique a été réalisé par acquisition en données dépendantes à l'aide de la fragmentation MS/MS et a montré que la sensibilité de certaines drogues comme la cocaïne permettait leur identification.

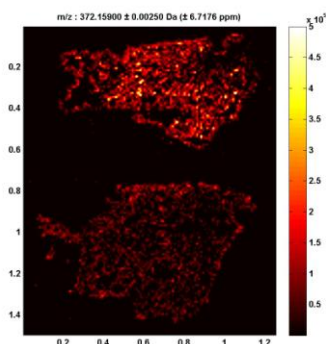


Figure 1 : Localisation de l'antidépresseur trazodone dans une section tissulaire de foie (haut) et de cerveau (bas) humain.

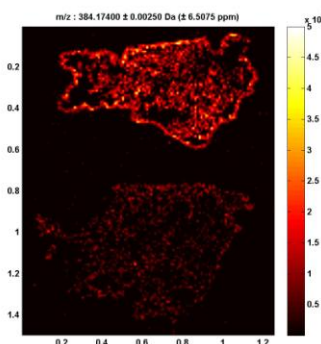


Figure 2 : Localisation du neuroleptique quétiapine dans une section tissulaire de foie (haut) et de cerveau (bas) humain.

Remerciements

Je souhaiterais tout d'abord remercier mon professeur responsable, Pfeifer Marc-Emil, pour m'avoir permis de rejoindre l'unité de toxicologie et chimie forensique en m'accompagnant dans ce projet et le Docteur Marc Augsburg, responsable de l'UTCF, pour m'avoir chaleureusement accueilli dans son laboratoire afin d'effectuer mon travail de diplôme dans un domaine qui m'a depuis toujours intéressé.

Un grand merci également à mon maître de stage, le Professeur Aurélien Thomas, qui m'a suivi tout au long de ce projet et m'a initié à la recherche et au développement dans le domaine de l'imagerie par spectrométrie de masse. Je souhaite le remercier pour le temps qu'il m'a consacré, son soutien et ces précieux conseils qui m'ont permis d'acquérir de nouvelles connaissances dans ce domaine. Grâce à sa confiance, j'ai pu m'accomplir dans mon travail et développer mon esprit critique et d'initiatives.

Mes remerciements les plus sincères au doctorant, Joye Timothée, pour sa gentillesse et sa patience. Il m'a apporté son aide et m'a appris toutes les manipulations utiles à mon travail.

Je souhaite exprimer ma gratitude à toute l'équipe du laboratoire pour leur sympathie et leur dynamisme.

Et pour terminer, j'aimerais remercier mes parents et mon compagnon qui m'ont toujours soutenu dans mes études et qui m'ont vivement encouragé tout au long de ces quatre derniers mois.

Table des matières

1. INTRODUCTION	1
2. MATERIEL	11
2.1 ECHANTILLONS	11
2.2 APPAREILLAGES	11
2.3 PRODUITS	11
3. METHODES	12
3.1 CONDITIONS DE BASE	12
3.2 OPTIMISATION DE LA DETECTION	14
3.3 IMAGERIE DE CAS REELS	15
3.4 SCREENING TOXICOLOGIQUE	16
4. RESULTATS ET DISCUSSION	17
4.1 CONDITIONS DE BASE	17
4.2 OPTIMISATION DE LA DETECTION	21
4.3 IMAGERIE DE CAS REELS	26
4.4 SCREENING TOXICOLOGIQUE	30
5. CONCLUSION	32
6. BIBLIOGRAPHIE	33
7. ANNEXES	36
7.1 APPAREILLAGE MALDI LTQ ORBITRAP	36
7.2 PRODUITS ET SECURITE	37
7.3 OPTIMISATION DE LA DETECTION	38
7.4 IMAGERIE DE CAS REELS	98
7.5 SCREENING TOXICOLOGIQUE	98

Liste des abréviations

IMS :	Imagerie par spectrométrie de masse
MS :	Spectrométrie de masse
MALDI :	Ionisation par désorption laser assistée par matrice
HRMS :	Spectrométrie de masse à haute résolution
HPLC-MS/MS :	Chromatographie en phase liquide à haute performance couplée à la spectrométrie de masse
OLZ :	Olanzapine
TOF :	Analyseur à temps de vol
SRM :	Selected reaction monitoring (mode de fragmentation)
MRM :	Multiple reaction monitoring (mode de fragmentation)
OCT :	Optimal cutting temperature compound (colle)
DHB :	Acide 2,5-dihydroxybenzoïque
CHCA :	Acide α -cyano-4-hydroxycinnamique
MeOH :	Méthanol
ACN :	Acétonitrile
TFA :	Acide trifluoroacétique
LTQ :	Trappe d'ion linéaire
DDA :	Acquisition en données dépendantes
FTMS :	Spectromètre de masse à transformée de Fourier
TIC :	Courant total ionique mesuré
BZE :	Benzoylecgonine
ME :	Ecgonine méthyle éther

1. INTRODUCTION

Depuis de nombreuses années, la compréhension de l'être humain a préoccupé les plus grands esprits. Différentes études ont été menées afin de mettre le doigt sur des questions existentielles sur l'homme et ce qui le compose. Ces études ont pu être réalisées grâce à la création et l'utilisation de technologies récentes qui ont pu affirmer certaines observations. En 1590, Hans et Zacharias Hansen inventèrent le premier instrument donnant accès à l'infiniment petit, le microscope [1]. Suite à cette découverte, la nécessité d'observer des éléments de plus en plus petits a conduit à pousser toujours plus loin les limites de l'observation et inventer de nouveaux appareillages toujours plus performants [2]. L'introduction de l'imagerie a permis d'évoluer dans le domaine de la biologie et de la médecine en passant d'une étude globale à une analyse moléculaire permettant d'observer des substances telles que des protéines, des peptides ou des métabolites. La recherche s'est orientée ainsi progressivement vers des investigations dites « omiques » telles que la génomique, la protéomique et plus récemment la métabolomique.

Parallèlement, les progrès et les innovations dans la spectrométrie de masse (MS), en termes de sensibilité et de sélectivité, ont également entraîné le développement de ces nouvelles études [3]. La MS est ainsi devenue le constituant essentiel de la plate-forme analytique. Dans ce contexte, de nombreuses stratégies MS ont été élaborées pour mettre en évidence ou surveiller des molécules d'intérêt dans des biomatrices [4]. Parmi elles, l'une des approches les plus innovantes et stimulantes a été le développement de technologies d'imagerie.

Ainsi, un nouvel outil puissant a fait son apparition dans le secteur du diagnostic par MS, l'imagerie par spectrométrie de masse (IMS). L'IMS est une technique analytique qui permet de cartographier la distribution de divers analytes dans des sections tissulaires, allant des protéines vers des molécules plus petites telles que les lipides, les drogues ou les médicaments. L'instrument enregistre les spectres de masse pour chacun des points disposés de manière régulière sur l'ensemble du tissu. Ces deux informations importantes (spectre et coordonnée) permettent de reconstruire des images ioniques au moyen d'outils informatiques. A partir d'une seule acquisition, il est alors possible d'observer autant d'images qu'il y a de molécules associées et voir leur localisation sur le tissu (figure A) [5]. Cette technique offre une grande sélectivité car la distinction entre les composés et les métabolites se fait facilement grâce à la spectrométrie de masse. Il est ainsi possible également de localiser la distribution d'un médicament parallèlement à un marqueur d'une maladie en progression comme le cancer [6].

Dans la dernière décennie, de nombreux efforts ont été entrepris pour développer des méthodologies et des instruments pour l'IMS [7,8]. Ces efforts ont conduit à sa reconnaissance dans le monde entier en raison de son potentiel clinique pour le diagnostic et le pronostic. Cependant, l'IMS est encore un nouvel outil qui est actuellement en cours de développement pour pousser la technologie vers l'avant et la rendre plus régulièrement accessible aux utilisateurs. Dans ce contexte, l'amélioration de la vitesse d'imagerie, la résolution spatiale et la sensibilité sont des questions et des défis techniques particulièrement importants dans le domaine de l'IMS [9].

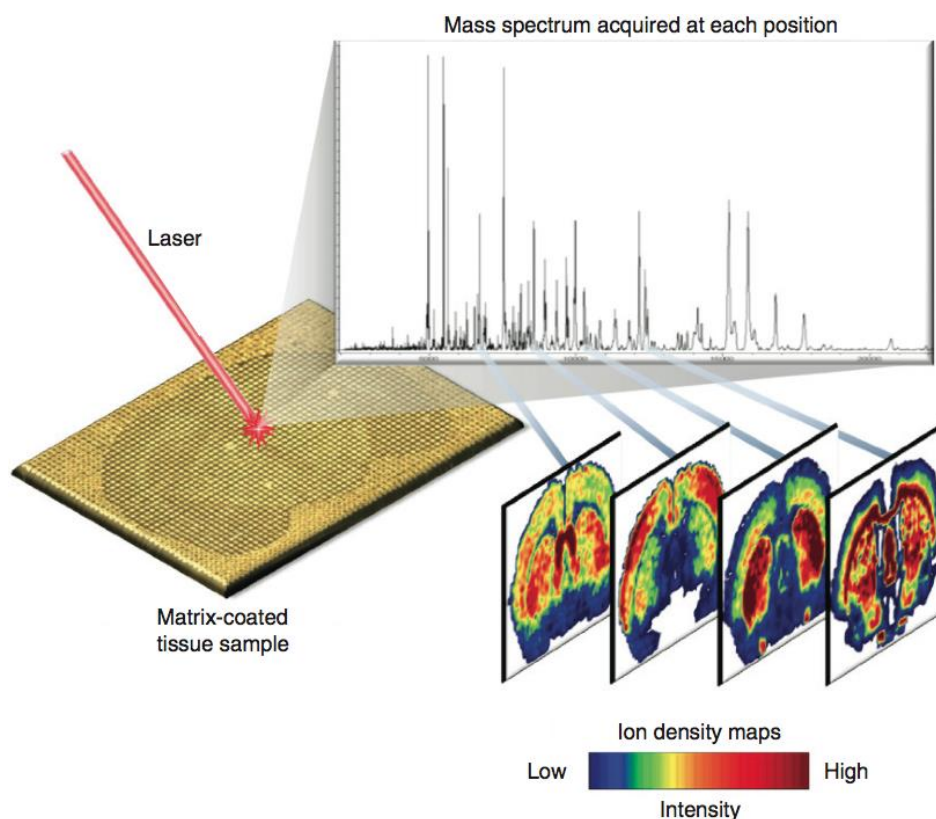


Figure A : Principe de l'imagerie par spectrométrie de masse. Un laser balaye le tissu point par point et l'instrument enregistre le spectre pour chaque molécule créant ainsi une image spécifique à chaque substance.

La spectrométrie de masse a été longtemps utilisée afin d'analyser des composés peu polaires, volatils et stables à la chaleur mais de nouvelles techniques d'ionisation ont étendu le domaine d'analyses aux biomolécules fragiles telles que les protéines ou les acides nucléiques [10]. L'une d'entre elles est l'ionisation par désorption laser assistée par matrice (MALDI) qui a été découverte en 1987 et qui a connu un grand succès. Cette technique fonctionne à l'aide d'un laser UV qui va balayer le tissu recouvert d'un dépôt de matrice dont les cristaux formés co-cristallisent avec les analytes. L'énergie du laser est absorbée par la matrice et provoque une sublimation qui va entraîner la matrice et les analytes afin d'être ionisés [11]. Cette forme d'ionisation a facilité la détection de divers composés dans des mélanges complexes.

Sur cette idée, à Nashville aux Etats-Unis, Richard M.Caprioli et son groupe de recherche ont étendu les analyses aux coupes de tissu et ont étudié la distribution des peptides et protéines dans des tumeurs cérébrales (glioblastome) grâce à l'IMS MALDI [12]. Il a été possible, en effectuant « un profilage », c'est-à-dire en effectuant l'acquisition de quelques points à différents endroits « sains et malades » du tissu, d'associer des pics de molécules à différentes zones histologiques et détecter ainsi des marqueurs caractéristiques tels que le marqueur T β .4 lié à une tumeur cérébrale. De la même manière, en effectuant une plus grande acquisition de points, il a été possible d'obtenir une image donnant plus d'informations quant à la distribution spatiale et à l'intensité du composé choisi (Figure B) [13].

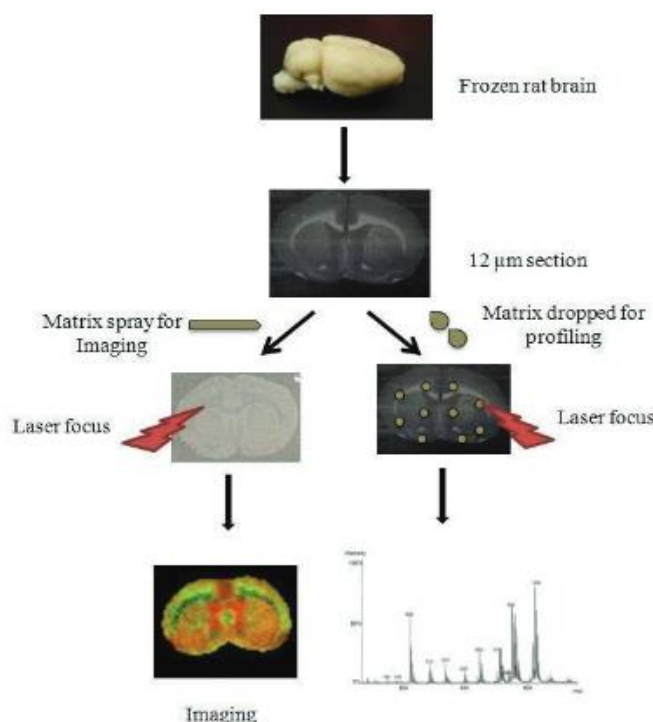


Figure B : Deux procédés utilisés pour l'analyse MALDI de sections tissulaires, l'imagerie et le profilage. Le tissu de cerveau congelé est découpé à 12μm et monté sur une lame. Pour l'imagerie, la solution de matrice est sprayée sur la section tissulaire. Dans le cas du profilage, elle est spotée sur la région d'intérêt. Après séchage, la matrice cristallise avec les analytes et le laser va venir se focaliser sur les cristaux afin de désorber et ioniser les analytes. Pour l'imagerie, on obtient une image et pour le profilage, un spectre de masse de la position où la désorption a été effectuée.

L'IMS MALDI a toujours très bien fonctionné pour l'analyse des macromolécules telles que les protéines mais récemment plusieurs études qualitatives et quantitatives ont été publiées sur de plus petites substances comme les drogues ou les médicaments (Tableau A) [6] car avant l'avènement de la haute résolution (HRMS), le bruit de fond de la matrice ne permettait pas de détection de molécules en dessous de 500Da.

La première application de l'IMS pour l'étude des drogues dans une section entière de tissu animal a été reportée en 2003 [14]. Cette étude a démontré que la drogue antitumorale SCH 226374 présente dans une tumeur de rat pouvait être mesurée et détectée grâce à la fragmentation. Dans cette même étude, en utilisant une chromatographie en phase liquide à haute performance couplée à la spectrométrie de masse (HPLC-MS/MS), il a été possible de quantifier parallèlement à l'IMS, un composé A injecté préalablement et présent dans un cerveau de rat.

L'introduction de l'imagerie par MALDI pour des sections entières corporelles a été d'une grande importance dans l'application de cette technologie pour les études toxicologiques et pharmacologiques. Dans cette optique, des coupes entières corporelles ont été analysées par IMS dans le but d'identifier diverses drogues comme un neuroléptique connu pour soigner les troubles bipolaires et de schizophrénie, l'olanzapine (OLZ). Ces recherches ont montré l'efficacité de l'IMS pour la détection simultanée de l'OLZ et de deux métabolites associés dans plusieurs organes de rats (foie, rein, vessie...)(figure C). Pour extraire l'OLZ, la préparation de la matrice a été optimisée en utilisant la matrice DHB dans 75% de

méthanol. Cette étude a permis de montrer l'importance de la préparation, d'expliquer la localisation spatiale de l'OLZ, l'interaction entre les molécules endogènes et exogènes et le mécanisme d'action de cette drogue [15].

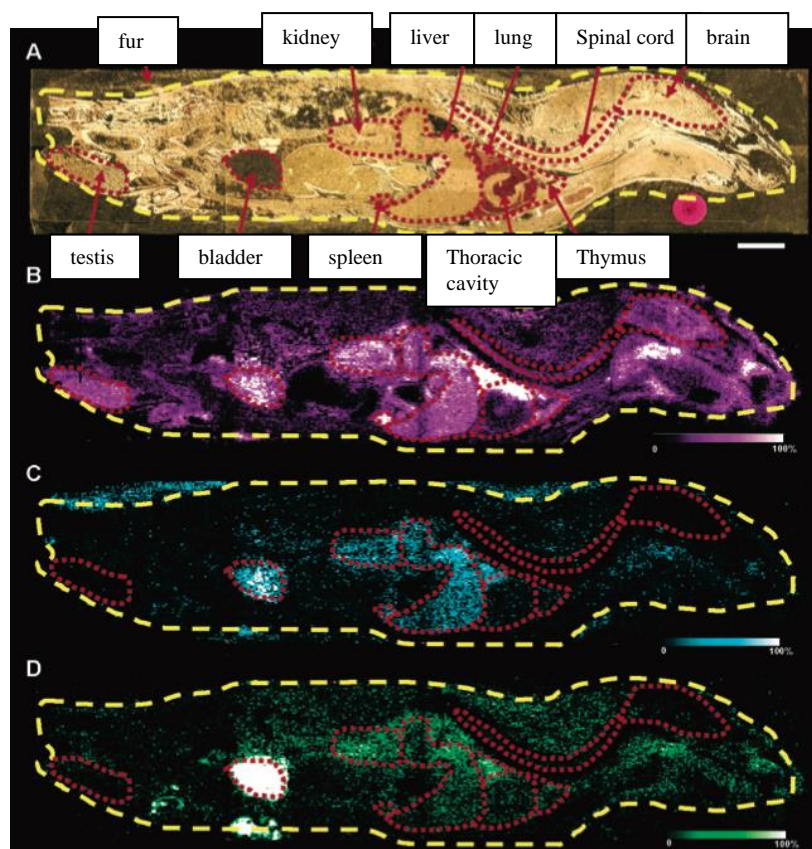


Figure C : Distribution de l'olanzapine et ses métabolites 2h après l'administration de la drogue dans une coupe corporelle sagittale par IMS.

(A) échelle (barre) : 1cm

(B) Image de la distribution spatiale de l'olanzapine après fragmentation MS/MS. Les organes sont entourés en rouge.

(C) Image de la distribution spatiale du métabolite m/z 256 après fragmentation MS/MS.

(D) Image de la distribution spatiale du métabolite m/z 272 après fragmentation MS/MS.

Une étude similaire a établi un lien entre l'IMS et l'autoradiographie en analysant la distribution de l'erlotinib, un anticancéreux, dans des sections de foie, de muscle et de rate [16] et en le quantifiant grâce à l'addition de standard interne et de la HPLC-MS/MS.

D'autres recherches récentes ont mis en évidence qualitativement par IMS diverses petites molécules dans le cerveau comme l'astémizole [17], un antihistaminique, la chlorisondamine [18], un anti-nicotinique, ou la cocaïne [18], un stupéfiant connu. Cette dernière a été quantifiée dans des tissus cérébraux en 2012 par une équipe de chercheurs américains et hollandais en utilisant un standard interne de cocaïne deutérée et les résultats ont été confrontés aux résultats obtenus par HPLC-MS/MS [19].

Récemment, la distribution quantitative de tiotropium et imipramine dans des tissus de cerveau et de poumon a été explorée. Les estimations ont été faites cette fois-ci sur la base de standards spottés sur le tissu [20].

Toutes ces études et bien d'autres encore (tableau A) [6] montrent l'étendue de l'imagerie pour mesurer des substances de petites masses dans le domaine de la toxicologie forensique et clinique. Les molécules analysées appartiennent à différentes familles de drogues et médicaments mais sont semblables par leur domaine de masse.

Tableau A: Résumé de quelques études sur les drogues et médicaments réalisées par imagerie par spectrométrie de masse

Analyte	Famille	Etude	Tissu	Instrument	Mode de détection	Réf.
Astémizole	Anthistaminique	Qualitative	Cerveau (rat)	MALDI QqTOF	MS MS/MS	[17]
Chlorisondamine	Antinicotinique	Qualitative	Cerveau (rat)	MALDI TOF/TOF	MS MS/MS	[18]
Chloriquine	Antipaludéen	Qualitative	Yeux (rat)	MALDI QqTOF	MS/MS	[21]
Cimétidine	Anthistaminique	Qualitative	Poumon (rat)	MALDI TOF/TOF	MS	[22]
Cocaïne	Drogue	Qualitative	Cerveau (rat)	MALDI TOF/TOF	MS MS/MS	[18]
		Quantitative				[19]
		Quantitative	Cerveau (humain)	MALDI-LTQ	MS2 MS3	[23]
		Quantitative	Noyau accumben (humain)	MALDI-QTOF MALDI-LTQ XL	MS/MS	[23]
Clozapine	Neuroleptique	Qualitative	Cerveau (rat)	MALDI QqTOF	SRM	[24]
Erlotinib	Anticancéreux	Qualitative Quantitative	Foie, rate, muscle (rat)	MALDI QqTOF	SRM	[16]
		Qualitative Quantitative	Tumeur poumon (humain)	MALDI LTQ Orbitrap	MS MS/MS	[25]
Gerfitinib	Anticancéreux	Qualitative Quantitative	Tumeur poumon (humain)	MALDI LTQ Orbitrap	MS MS/MS	[25]
Imipramine	Antidépresseur	Qualitative	Poumon (rat)	MALDI TOF/TOF	MS	[22]
Ifosfamide et imatinib	Anticancéreux	Qualitative	Rein (souris)	MALDI LTQ Orbitrap	MS	[26]
Olanzapine	Neuroleptique	Qualitative	Corps entier (rat)	MALDI QqTOF	MRM	[15]
		Quantitative	Section entière corporelle	MALDI TOF	MS	[27]
		Quantitative	Foie (rat)	MALDI QqTOF	MS/MS	[27]
SCH 226374	Anti-cancéreux	Qualitative	Cerveau (souris)	MALDI QqTOF	SRM	[14]
Tiotropium	Anticholinergique	Quantitative	Poumon (rat)	MALDI LTQ Orbitrap	MS MS/MS	[28]

Ces études ont relevé un point essentiel à l'analyse MALDI, la préparation. Elle représente une étape cruciale dans l'imagerie car elle permet d'optimiser la sensibilité et la résolution spatiale. Les étapes de la préparation pour ce projet sont décrites dans la figure D [29].

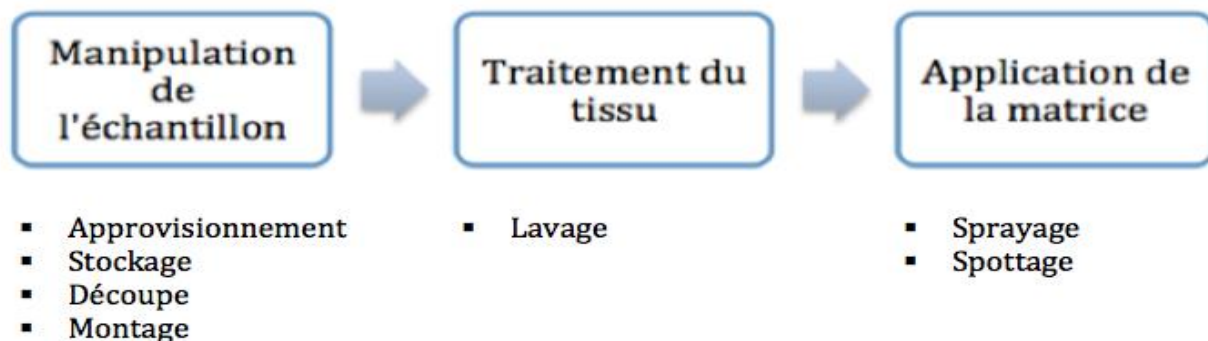


Figure D : Etapes de préparation pour l'imagerie par spectrométrie de masse afin d'optimiser la qualité de l'image.

La préparation pour IMS débute par la récolte de l'échantillon qui provient le plus souvent d'autopsie animale ou humaine. L'échantillon doit être préservé le mieux possible afin d'éviter toute dégradation et de conserver son intégrité moléculaire et histologique. Pour ce faire, il est maintenu simplement congelé à -20°C au congélateur ou immergé dans l'azote liquide lentement à l'aide d'une feuille d'aluminium et conservé à -80°C pour pouvoir être préservé 1 année [30].

L'étape suivante consiste à découper l'échantillon dans un cryostat (figure E) afin d'obtenir des sections de tissus. Pour cela, l'échantillon est placé et fixé sur un support à l'aide d'une colle appelée optimal cutting temperature compound (OCT) qui durcit à basse température. Cependant, ce polymère peut être facilement ionisé lors de l'analyse MALDI et conduire à une contamination de l'échantillon et une suppression d'ions [30]. C'est pourquoi, il convient d'en mettre peu et de ne pas recouvrir l'échantillon. Selon le tissu, la découpe peut varier entre 3 et $20\mu\text{m}$ et la température entre -12°C et -30°C (tableau B) [31].

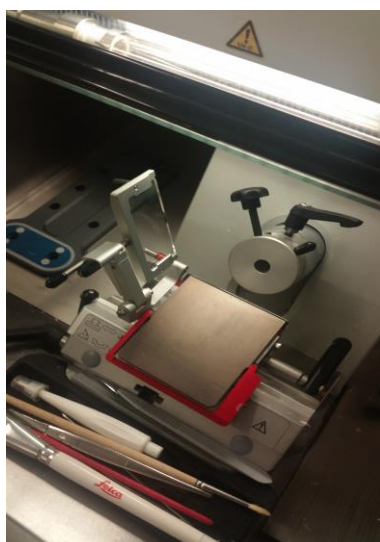


Figure E : Cryostat du laboratoire de toxicologie et chimie forensique du CURML.

Tableau B : Températures recommandées pour la découpe de tissus congelés

Type de tissu	Température de découpe
Cerveau	-12°C
Foie	-14°C
Ganglion lymphatique	-14°C
Rein	-16°C
Rate	-16°C
Muscle	-20°C
Tyroïde	-20°C
Peau	-25°C
Sein	-25°C
Sein avec graisse	-30°C
Tissue adipeux	-30°C

Les sections de tissus sont ensuite montées sur une lame de microscope (75 x 25 x 1mm) à l'aide d'un pinceau et un doigt est placé sous la lame pour que les tissus se fixent dessus en fondant. Les froissures et déchirures sont à éviter. Le montage fini, la lame est placée sur une plaque MALDI pour imagerie.

Il existe plusieurs traitements du tissu avant l'application de la matrice comme le lavage du tissu qui est utile à la détection et l'amélioration de l'analyse. Les tissus biologiques contiennent une grande variété d'espèces chimiques qui peuvent interférer avec la mesure, inhiber la cristallisation des analytes avec la matrice et diminuer la sensibilité. Le lavage est une forme d'extraction qui permet d'éliminer certaines molécules non désirées du tissu pour ne garder que les analytes d'intérêt dans le but d'augmenter leur intensité. Le protocole de lavage dépend donc des substances à analyser. Une étude a démontré que la détection de petites molécules peut augmenter en jouant sur le pH et la concentration d'un tampon d'acétate d'ammonium [22,32]. D'un autre côté, la procédure la plus connue pour la préservation de grandes molécules comme les protéines est le lavage à l'éthanol [29].

La dernière étape qui est l'essence même de l'analyse MALDI est l'application de la matrice. Elle joue un rôle important car elle sert à extraire et permettre la désorption et l'ionisation des biomolécules des tissus. Il existe une sélection de matrices connues et utilisées pour différentes applications (tableau C) [29][33]. Les 2 matrices les plus utilisées pour les drogues et médicaments sont le DHB et le CHCA. Pour optimiser la détection, il faut jouer sur des paramètres comme la concentration de la matrice, le solvant de dilution et son pourcentage car cela influence les propriétés d'extraction et de cristallisation [34]. En effet, la cristallisation agit sur la solubilité des analytes et sur leur désorption avec le laser. Cependant, la formation de cristaux dépend non seulement du solvant mais aussi du tissu et de son histologie.

La déposition de la matrice peut être réalisée de diverses façons [29]. Afin d'obtenir une couche homogène de matrice, son application s'effectue généralement à l'aide d'un sprayeur automatique de type SunCollect (figure F) ou ImagePrep en jouant sur le nombre de couches et la vitesse de déposition. De cette manière, la matrice sprayée en fines gouttelettes, est déposée uniformément sur le tissu. Néanmoins, la matrice s'accumule mieux à certains endroits du tissu où les conditions de « mouillage » sont optimales [35].

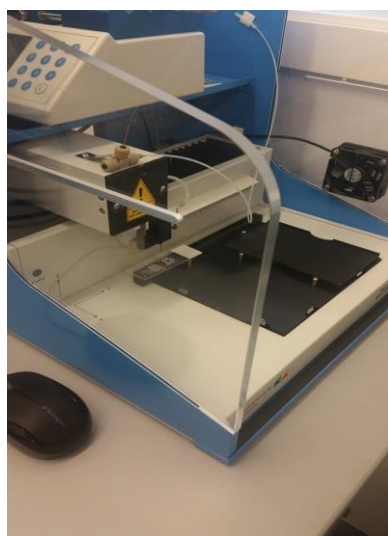


Figure F: Sprayeur automatique SunCollect utilisé pour le dopage et la déposition de la matrice.

Tableau C : Différentes matrices utilisées pour la préparation en imagerie par spectrométrie de masse

Matrice	Analytes détectés
Acide 2,5-dihydrobenzoïque (DHB)	Drogues, lipides, peptides, protéines
Acide α -cyano-4-hydroxycinnamique (CHCA)	Drogues, lipides, peptides, protéines
Acide sinnapique (SA)	Protéines
Acide 3-hydroxypicolinique (3-HPA)	Peptides, oligonucléotides
2,4-dinitrophénylhydrazine (2,4-DHPH)	Peptides
2,4,6-trihydroxyacetophénone (THAP)	Drogues, lipides, oligonucléotides
2,6-dihydroxyacetophénone (DHA)	Lipides
1,5-diaminonaphtalène (DAN)	Lipides

Il est également possible de déposer la matrice en la spottant sur le tissu. Une équipe de recherche dans le domaine de l'imagerie a développé un microdoseur actionné par une puce électronique piézo afin d'appliquer automatiquement des gouttes de matrice régulièrement espacées sur le tissu et ainsi optimiser les conditions de « mouillage » en améliorant le signal sur bruit. Cette technique permet un bon rendement d'extraction mais est limitée en terme de résolution spatiale (150-200 μ m) [35].

En résumé, la préparation est un processus très important pour l'IMS car elle joue un rôle capital dans la détection, la sensibilité de l'analyse et la qualité des images ioniques générées. Une préparation inappropriée peut conduire à une mauvaise cristallisation, à une délocalisation ou une dégradation des analytes.

Suite à la préparation, vient l'analyse sur l'instrument. Il existe de nombreux instruments pour l'analyse en imagerie par spectrométrie de masse. L'un d'entre eux est le MALDI LTQ Orbitrap qui apparaît comme une des dernières générations de spectromètres de masse à haute résolution. Le MALDI LTQ Orbitrap (figure G) [36] est un système hybride basé sur une trappe d'ions linéaire (LTQ) et l'Orbitrap. D'un côté, le LTQ permet une haute sensibilité, une gamme dynamique élevée allant de 100 à 4000m/z et la possibilité d'effectuer de la fragmentation MSⁿ. D'un autre côté, l'Orbitrap amène la haute précision en masse et la haute résolution qui peut atteindre 100'000 à 400m/z. Ces paramètres sont d'une très grande importance lors de l'analyse de petites molécules comme les drogues et médicaments car le bruit de fond dû à la matrice est important lors de l'analyse MALDI.

Le rôle de l'Unité de toxicologie et de chimie forensique est d'identifier et doser différentes substances telles que les médicaments et les drogues dans des échantillons biologiques tels que les urines ou le sang par exemple. L'utilisation de l'imagerie MALDI permet de développer des stratégies analytiques rapides qui servent à la recherche de substances dans des échantillons tissulaires grâce au « screening toxicologique » tout en préservant la distribution spatiale des molécules par rapport aux régions histologiques.

Le développement d'une méthode de screening toxicologique, par acquisition en données dépendantes (DDA), permet la détection et l'identification d'un analyte recherché. Cette technique combine une analyse in situ de la totalité des molécules (full scan) et une fragmentation MS/MS des analytes importants selon des critères prédéfinis dans le but de rechercher des substances toxiques dont la présence n'est pas confirmée. Le criblage toxicologique implique le développement de diverses méthodes et l'utilisation de techniques variées. Actuellement, il existe déjà plusieurs méthodes de détection et d'identification. Par exemple, par HPLC-MS/MS, une équipe de chercheurs a réussi à détecter rapidement et efficacement 301 drogues dont des benzodiazépines, des opiacés, des antidépresseurs, des cannabinoïdes, des amphétamines...[37]. Une autre étude a pu identifier des lipides dans des sections cérébrales de souris par imagerie par spectrométrie de masse [38]. Cette dernière étude n'a jamais été appliquée à un screening toxicologique et les nombreuses recherches effectuées sont souvent d'ordre quantitatives.

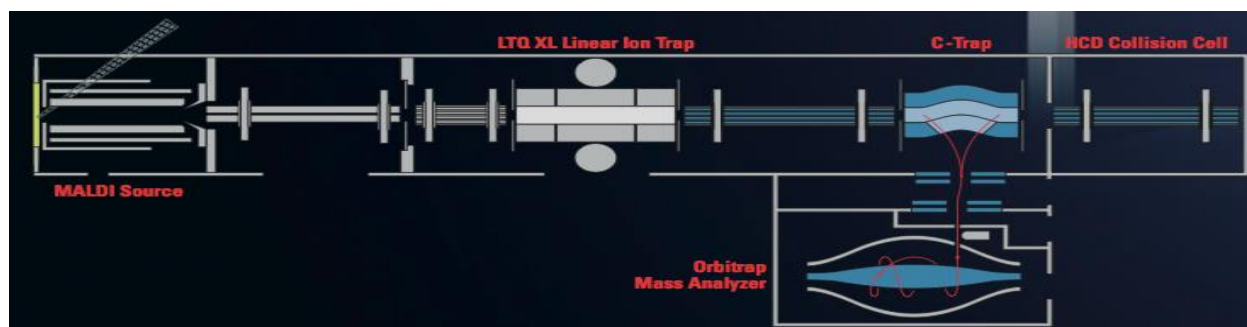


Figure G : Schéma de l'instrument MALDI LTQ Orbitrap utilisé dans le cadre de ce projet.

Au cours de ce projet, il sera question dans un premier temps de développer et optimiser une méthode d'imagerie par spectrométrie de masse pour la détection d'une gamme représentative de drogues (tableau D) dans des tissus de foie de rat. L'analyse est très dépendante de la préparation, c'est pourquoi, des paramètres tels que le choix de la matrice, la proportion de solvant et le lavage du tissu vont être étudiés sur un foie de rat artificiellement dopé pour améliorer la détection. Ces paramètres seront utilisés par la suite dans le but d'acquérir des images de cas réels et de localiser diverses substances sur plusieurs types de tissus.

Finalement, un screening toxicologique sera effectué in situ à l'aide d'acquisition en données dépendantes (DDA) par MS avec les paramètres optimaux. Il s'agira d'appliquer cette méthode à des cas réels de personnes ayant consommées dans le but de détecter rapidement à l'aide d'analyses combinées (full scan et MS/MS) les drogues présentes dans les tissus analysés.

Un grand nombre d'études a été réalisé dans le domaine de la protéomique et lipidomique mais l'analyse de drogues et médicaments reste moins fréquente. Par conséquent, le but de ce projet sera de développer une méthode d'imagerie pour effectuer un diagnostic toxicologique rapide et efficace pour le plus grand nombre de drogues dans des sections tissulaires.

Tableau D : Quatorze drogues analysées

Famille de drogues	Drogue, formule brute Nom IUPAC	Masse MS	Structure chimique
Cocaïne	Cocaïne $C_{17}H_{21}NO_4$ (1R,2R,3S,5S)-3-(Benzoyloxy)-8-méthyl-8-azabicyclo[3.2.1]octane-2-carboxylate de méthyle	304.1543	
Amphétamines	Amphétamine $C_9H_{13}N$ 1-phénylpropan-2-amine	136.1121	
	MDMA $C_{11}H_{15}NO_2$ 1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-N-méthylpropan-2-amine	194.1176	

Benzodiazépines	Diazepam $C_{16}H_{13}ClN_2O$ 7-Chloro-1-méthyl-5-phenyl-1,3-dihydro-2H-1,4-benzodiazépin-2-one	285.0789	
	Midazolam $C_{18}H_{13}ClFN$ 8-Chloro-6-(2-fluorophényl)-1-méthyl-4H-imidazo[1,5-a][1,4]benzodiazépine	326.0855	
Opiacés	Morphine $C_{17}H_{19}NO_3$ (5 α ,6 α)-17-Méthyl-7,8-didéhydro-4,5-époxy-morphinane-3,6-diol	286.1438	
	Méthadone $C_{21}H_{27}NO$ (RS)-6-(diméthylamino)-4,4-diphényl-3-heptanone	310.2165	
	Tramadol $C_{16}H_{25}NO_2$ (1S,2S)-2-[(Diméthylamino)méthyl]-1-(3-méthoxyphényl)cyclohexanol	264.1958	
Neuroleptiques	Olanzapine $C_{16}H_{25}NO_2$ 2-Méthyl-4-(4-méthyl-1-pipérazinyl)-10H-thiéno[2,3-b][1,5]benzodiazépine	313.1481	
	Quetiapine $C_{21}H_{25}N_3O_2S$ 2-{2-[4-(Dibenzo[b,f][1,4]thiazépin-11-yl)-1-pipérazinyl]éthoxy}éthanol	384.1740	
Anti-dépresseurs	Amitryptiline $C_{20}H_{23}N$ 3-(10,11-Dihydro-5H-dibenzo[a,d][7]annulén-5-ylidène)-N,N-diméthyl-1-propanamine	278.1903	
	Citalopram $C_{20}H_{21}FN_2O$ 1-[3-(Diméthylamino)propyl]-1-(4-fluorophényl)-1,3-dihydro-2-benzofurane-5-carbonitrile	325.1711	
	Fluoxetine $C_{17}H_{18}F_3NO$ N-méthyl-3-phényl-3-[4-(trifluorométhyl)phénoxy]propan-1-amine	310.1413	
Cannabinoïdes	THC $C_{21}H_{30}O_2$ (6aR,10aR)-6,6,9-Triméthyl-3-pentyl-6a,7,8,10a-tétrahydro-6H-benzo[c]chromén-1-ol	315.2319	

2. MATERIEL

2.1 Echantillons

L'échantillon de foie de rat utilisé pour la première partie du projet provient du laboratoire de toxicologie et chimie forensique de Genève. Les échantillons humains de foie et cortex cérébrale contaminés à la MDMA, à la quétiapine, à la trazodone, au midazolam et le cerveau dopé à la cocaïne employés pour l'imagerie et le screening toxicologique sont issus d'autopsies réalisées au cœur du centre universitaire romand de médecine légale (CURML) sous les n° d'autopsies 288/15, 160133-M, 160178-M et 308/15.

2.2 Appareillages

Les différents appareils employés tout au long de ce travail se trouvent dans le laboratoire de toxicologie et chimie forensique (UTCF) du centre universitaire romand de médecine légale de Lausanne et sont décrits ci-dessous.

- Lames de microscope ThermoFisher Scientific Superfrost™ Plus 75 x 25 x 1mm
- Microcentrifugeuse (Techne Cambridge force 16, witec Ag)
- Cryostat (Leica CM1860 UV)
- Sprayer MALDI spotter Suncollect (SunChrom)
- Spectromètre de masse MALDI LTQ XL (Thermo Scientific)
- Logiciels: Thermo Tune Plus, ImageQuest, Xcalibur data system, MsiReader

2.3 Produits

Le méthanol, l'acétonitrile, l'eau et l'acide trifluoroacétique sont de qualité ULC-MS et proviennent de Biosolve (référence méthanol : 136841, acétonitrile : 1204101, eau : 232141, acide trifluoroacétique : 202341). L'acide 2,5-dihydroxybenzoïque (DHB) et l'acide α -cyano-4-hydroxycinnamique (CHCA), composants principaux de la matrice, sont de pureté $\geq 99.0\%$ HPLC et sont obtenus auprès de la firme Sigma Aldrich (référence DHB : 85707-1G-F) et Fluka Analytical (référence CHCA : 70990-1G-F). Les standards de drogues à 1mg/ml dissoutes dans du méthanol ont été commandés auprès de la firme Lipomed (référence amphétamine : AMP-95-HC-1LM, MDMA: MDM-94-HC-1LM, Cocaïne: COC-156-FB-1LA, Diazepam: DIA-107-1LM, Midazolam: MID-111-FB-1LM, Citalopram: CTL-1065-HB-1LM, Quétiapine: QUE-1200-FU-1LM, Olanzapine: OLZ-1064-FB-1LA, morphine: M-35-FB-1LM, méthadone: MET-637-HC-1LM, tramadol: TRA-779-HC-1LM, Δ^9 -tetrahydrocannabinol: THC-135-1LE) et Cerilliant (Fluoxetine: F-918, amitriptyline: A-923). Les produits tels que l'acide acétique de pureté $\geq 99.8\%$ (33209) et l'acétate d'ammonium de pureté $\geq 98\%$ (32301-100G) ont été commandés auprès de Sigma-Aldrich. L'hydroxyde d'ammonium 25% est fourni par Fluka avec un n° de référence de 09861. Finalement, le milieu d'enrobage OCT a été acquis auprès de la société Leica Biosystems avec un numéro de référence de 14020108926. Un tableau résumant les produits utilisés se trouve à l'annexe 7.2.

3. METHODES

Ce projet est divisé en trois parties qui sont l'étude des conditions de base pour la déposition de la matrice et la détection des drogues en imagerie par spectrométrie de masse, l'optimisation de la préparation pour obtenir le signal le plus intense pour un ensemble de molécules étudiées et le screening toxicologique sur des cas réels.

3.1 Conditions de base

Les conditions de base regroupent les conditions nécessaires à la détection des quatorze drogues étudiées sans optimisation. Les conditions exigées sont une déposition homogène de la solution de drogues pour obtenir une détection dans l'entier du tissu analysé et avoir ainsi un modèle expérimental. Une application homogène de la matrice est aussi nécessaire afin d'optimiser la limite de détection et la qualité des images ioniques obtenues. Afin de répondre à ces exigences, plusieurs expériences ont été réalisées en variant différents paramètres dans le but d'obtenir les conditions requises.

Premièrement, les deux matrices CHCA 15mg/ml dans 50%ACN/50%H₂O/0.1%TFA et DHB 30mg/ml dans 50%MeOH/50%H₂O/0.1%TFA ont été préparées en pesant chaque matrice, en les diluant dans les solvants choisis, en les centrifugeant trois fois 10min à 10'000tours/min et en récupérant le surnageant entre chaque centrifugation pour éviter par la suite une obstruction du capillaire du sprayeur. Puis, elles ont été utilisées sur des tissus non dopés pour étudier à blanc le nombre de couches de matrice nécessaires à l'extraction. Pour cela, 10 et 15 couches de chaque matrice ont été sprayées à une vitesse de 10µl/min pour la couche 1, 20 µl/min pour la couche 2, 30µl/min pour la couche 3 et 40µl/min pour les couches 4 et suivantes avec l'appareil SunCollect sur quatre tissus différents (figure H). Les tissus ont été préparés préalablement en découpant à l'aide du cryostat à -20°C des sections de 12µm d'épaisseur de foie et en les déposant sur une lame à microscope. Les paramètres utilisés pour le sprayeur et la découpe ont été optimisés au cours d'une étude précédente réalisée dans l'unité de toxicologie et chimie forensique [39].

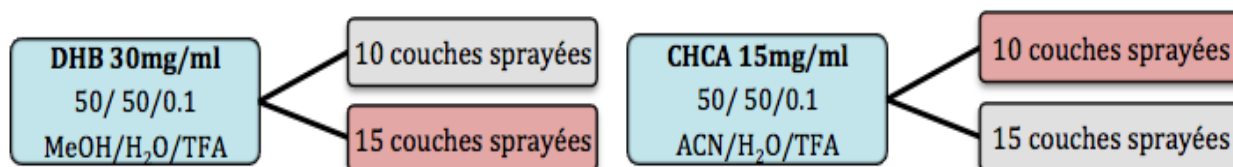


Figure H : Schéma des conditions testées pour la déposition de la matrice. Les conditions choisies sont colorées en rouge.

Après avoir obtenu les conditions minimales d'extraction pour chaque matrice, il a été question d'étudier la déposition homogène du mélange de drogues afin d'avoir un modèle expérimental nécessaire pour optimiser les protocoles. Les concentrations de 1 μ g/ml et 10 μ g/ml dans 50% ACN / 50% H₂O / 0.1% TFA ont été testées mais afin de se rapprocher d'une concentration réelle, la concentration de 1 μ g/ml a été retenue.

Ensuite, le spottage manuel avec une pipette de volume de 0.2 μ l et 1 μ l et le sprayage automatique avec SunCollect de la solution de drogue ont été expérimentés. Ces deux opérations ont été réalisées sur et sous le tissu [40] pour examiner la meilleure absorption du tissu en variant le volume déposé pour le spottage (0.2 μ l et 1 μ l) et en modifiant le nombre de couches déposées et la vitesse d'application en μ l/min pour le sprayage (figure I).

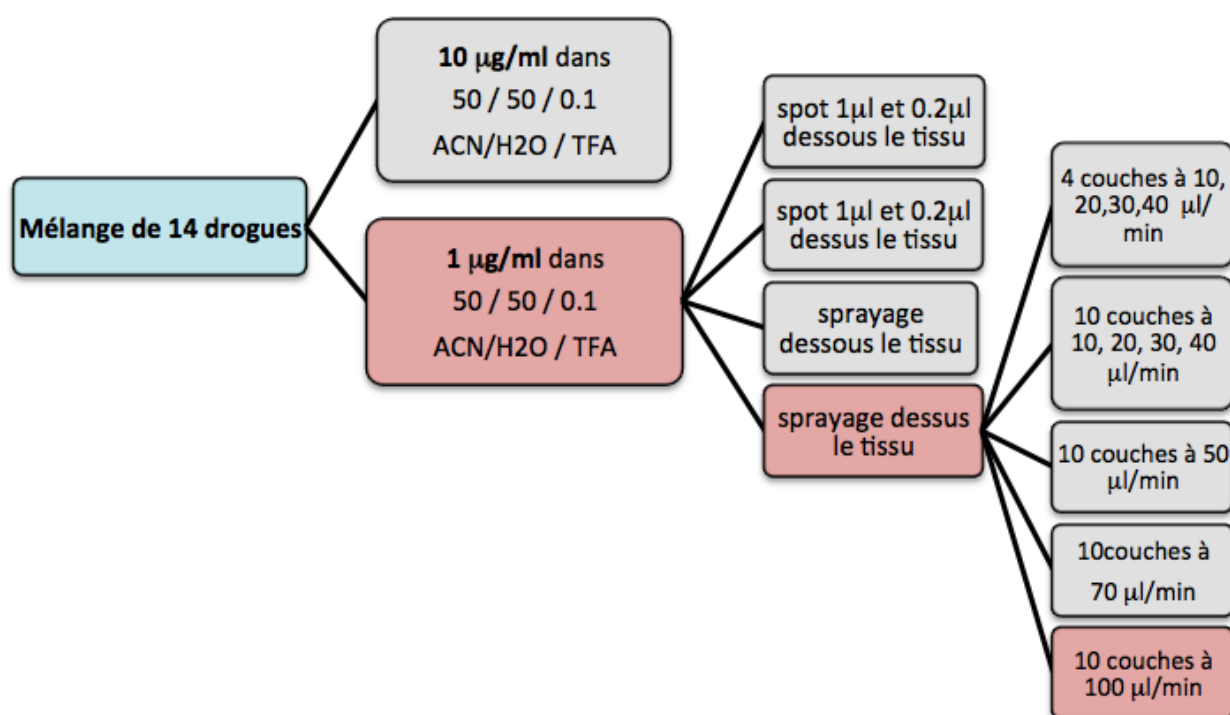


Figure I : Schéma des conditions testées pour l'application du mélange de 14 drogues sur le tissu. Les conditions choisies sont colorées en rouge.

Les lames ont été insérées dans la plaque MALDI et analysées sur un LTQ Orbitrap XL en mode positif, en FTMS (spectromètre de masse à transformée de Fourier) avec une résolution de 60'000, en effectuant une analyse full scan et avec une gamme de masse allant de 100 à 500 m/z. L'acquisition des données s'est faite en mode manuel pour la déposition de la matrice et en mode raster (balayage) sur 100 pixels avec une résolution de 100 μ m pour visualiser la déposition du mélange de drogue, avec une énergie de laser de 5.0 μ J et avec 4 coups de laser pour chaque point analysé.

3.2 Optimisation de la détection

En imagerie par spectrométrie de masse, la préparation du tissu à analyser est une étape très importante qui va influencer les paramètres de détection comme la sensibilité et la résolution spatiale. C'est pourquoi, pour localiser une gamme représentative de drogues par IMS, il a été important de jouer sur différents éléments comme le choix de la matrice, la composition des solvants [34] et le lavage [22].

Premièrement, les tissus ont été préparés de la même façon que pour les conditions initiales en découpant à l'aide du cryostat à -20°C des sections de 12µm d'épaisseur de foie et en les déposant sur une lame à microscope. Ensuite, les tissus ont été dopés avec 10 couches d'une solution de 1µg/ml de 14 drogues dans 50% ACN / 50% H₂O / 0.1% TFA à l'aide du sprayeur SunCollect à une vitesse de 100µl/min et laissés sécher à température ambiante pendant 15 minutes. Deux matrices ont été étudiées, la matrice CHCA et DHB, en déposant 10 couches de CHCA à 15mg/ml et 15 couches de DHB à 30mg/ml à 10µl/min pour la première couche, 20µl/min pour la deuxième couche, 30µl/min et 40µl/min pour les couches suivantes. Après avoir choisi la matrice donnant les meilleures intensités, la composition des solvants a été examinée en testant 30%, 50% et 70% de solvant et 0%, 0.1% et 0.3% de TFA pour chaque matrice (figure J). Les analyses ont été effectuées trois fois sur le même tissu pour la répétabilité et sur trois préparations différentes.

La matrice ainsi que la composition des solvants choisis, l'effet des lavages a été étudié en effectuant des lavages entre le dopage du tissu et la déposition de la matrice avec des solutions tampons d'acétate d'ammonium 0.1M et 0.01M à pH 3 et 10 [22] et en laissant sécher à température ambiante 20 minutes avant l'application de la matrice (figure K).

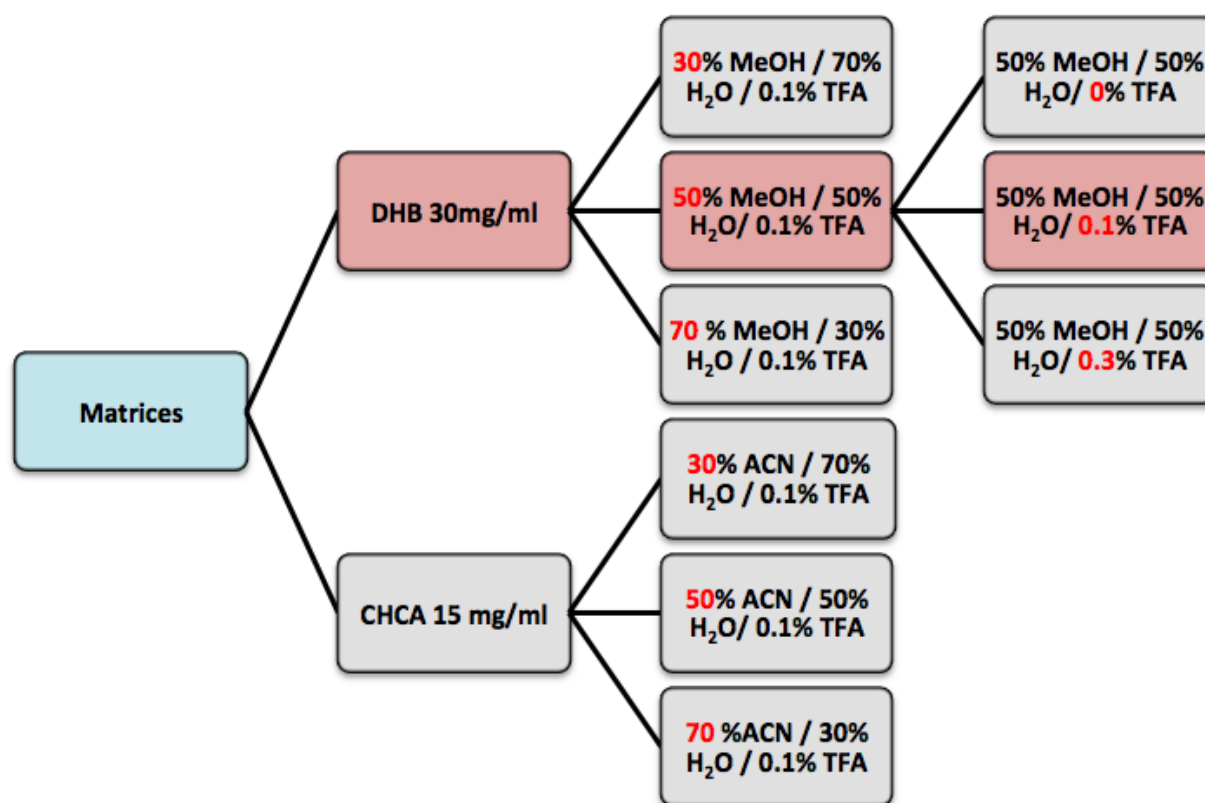


Figure J : Schéma des paramètres de préparation testés pour l'optimisation de la détection des 14 drogues analysés. Les conditions choisies sont colorées en rouge.

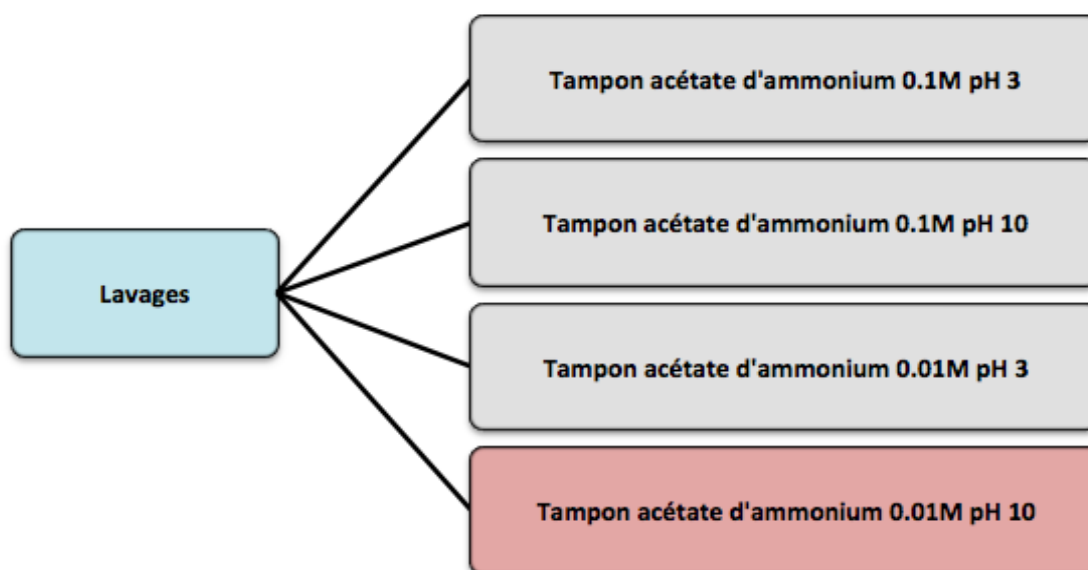


Figure K : Schéma des lavages effectués avec les tampons d'acétate d'ammonium pour améliorer la détection. La condition choisie est colorée en rouge.

L'acquisition des données sur le MALDI LTQ Orbitrap a été effectuée comme précédemment mais en mode raster (balayage du tissu) pour obtenir une image de 100 pixels avec une résolution de 100 μ m et extraire, grâce au logiciel MSiReader, un fichier de données contenant toutes les intensités pour les quatorze masses de molécules choisies et pour chaque coordonnée de l'image.

3.3 Imagerie de cas réels

En utilisant les paramètres optimaux, il a été possible d'acquérir des images entières tissulaires pour quatre cas réels. L'acquisition d'une image entière de tissu s'effectue de la même manière que pour l'acquisition de 100 pixels lors de l'optimisation des facteurs de préparation (voir point 3.2). Les paramètres d'analyses ne changent pas (mode positif avec une résolution de 60'000, en full scan, avec une gamme de masse allant de 100 à 500 m/z, une énergie de laser de 5.0 μ J et avec 4 coups de laser pour chaque point analysé en raster avec une résolution de 100 μ m). Les conditions testées pour le recouvrement du tissu sont la matrice DHB 30mg/ml à 50%MeOH / 50% H₂O / 0.1% TFA sans et avec lavage tampon, 60% MeOH / 40% H₂O / 0.1% TFA sans lavage et 70% MeOH / 30% H₂O / 0.1% TFA sans lavage.

3.4 Screening toxicologique

Le screening toxicologique effectué lors de ce projet est basé sur une étude réalisée par imagerie par spectrométrie de masse sur les lipides [38]. Une méthode de détection et d'identification pour les 14 drogues analysés a été créé. Ce protocole a été appliqué d'abord sur le tissu de foie de rat dopé artificiellement avec la solution de 14 drogues de 1µg/ml avec les conditions optimisées au point 3.1 et 3.2 et ensuite a été essayé sur les quatre cas réels avec la matrice DHB 30mg/ml dans 70% MeOH / 30% H₂O / 0.1% TFA. Pour ce faire, une procédure pour l'acquisition en données dépendantes a été créé sur le logiciel Thermo Xcalibur en entrant deux «Scan Events» : un full scan suivi d'une fragmentation MS. Les paramètres entrés pour le «Scan Event 1» sont l'utilisation de l'analyseur FTMS, une résolution de 60'000, en mode full scan et positif avec des masses allant de 100 à 500m/z. Les paramètres pour le «Scan Event 2» sont l'utilisation de l'analyseur FTMS avec une résolution de 15'000 et l'activation des paramètres d'acquisition en données dépendantes en utilisant une collision HCD (Higher-energy Collision Dissociation) avec une énergie de 45.0 kJ/mol et une charge unique de 1. Les masses recherchées sont introduites dans la méthode pour pouvoir être fragmentées si elles sont trouvées sur le tissu et sont stockées dans une liste d'exclusion après 3 fragmentations pendant 300 secondes avant d'être refragmentées. L'acquisition est effectuée en mode «spiral raster» (balayage en forme de spiral) avec une résolution de 100µm entre chaque pixel (raster step), une première acquisition en full scan et une seconde pour la fragmentation à 25µm dans le même pixel (spiral step). Le balayage en forme de spiral est effectué lors du screening toxicologique est montré à la figure L. Les spectres de fragmentation sont extraits sur Xcalibur à l'aide de Qual Browser.

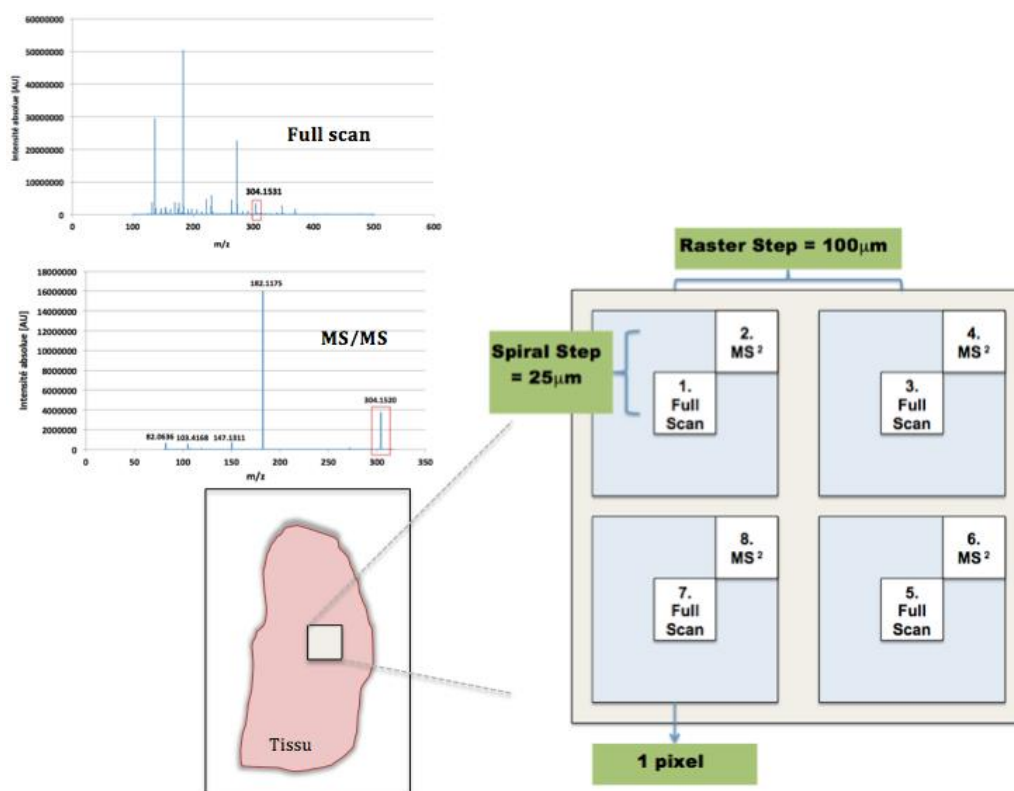


Figure L: Illustration du mouvement en spirale effectué pour l'acquisition en données dépendantes lors du screening toxicologique. Les numéros indiquent l'ordre des acquisitions réalisées, un full scan suivi d'une fragmentation MS² selon le nombre de pixels à scanner.

4. RESULTATS ET DISCUSSION

4.1 Conditions de base

Lors de la première partie de ce projet, il a été question de trouver les conditions de bases nécessaires à la détection de 14 drogues sprayées de référence sur un tissu de foie de rat en regroupant deux critères importants, un spectre de masse sans bruit de fond et une déposition homogène de la solution contenant les 14 drogues sur l'entier du tissu. Suite à différentes expériences, les conditions suivantes ont été retenues pour la déposition de la matrice : **10 couches de 15mg/ml de CHCA et 15 couches de 30mg/ml de DHB**. En effet, cette dernière condition a montré un spectre présentant un meilleur rapport S/N (figure M et N). De plus, ceci est en accord avec l'image optique démontrant une meilleure cristallisation (figure O).

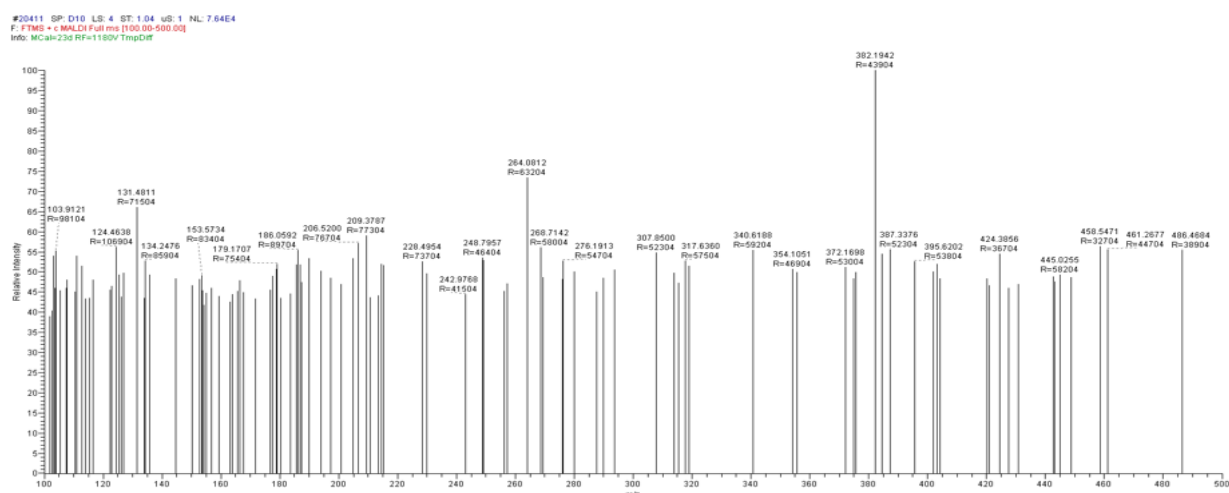


Figure M: Spectre de masse obtenu pour un tissu de foie de rat recouvert par 10 couches de DHB 30mg/ml. Le spectre montre une mauvaise déposition de la matrice avec la présence uniquement d'un bruit de fond électronique.

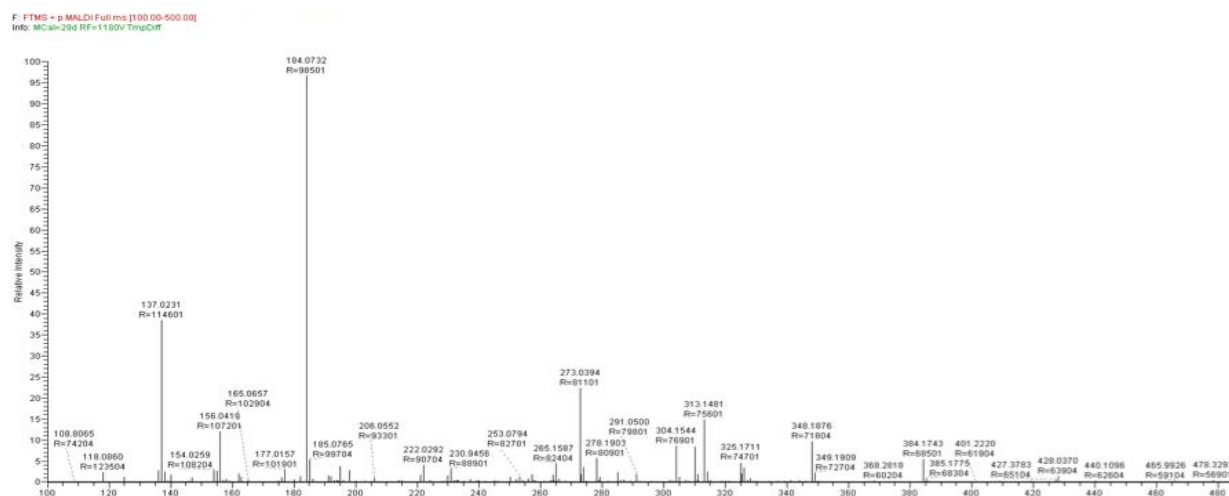


Figure N : Spectre de masse obtenu pour un tissu de foie de rat recouvert par 15 couches de DHB 30mg/ml. Le spectre montre une bonne déposition de la matrice car on constate un courant total ionique (TIC) mesuré élevé et de nombreux pics caractéristiques.

La matrice aide à effectuer l'ionisation des analytes. Après avoir été excitée par les photons d'un laser à une longueur d'onde donnée, elle transmet son énergie aux molécules qui vont s'ioniser en phase gazeuse. Le signal obtenu dépend de plusieurs facteurs tels que le nombre de couches déposées. Le nombre de couches déposées influence la cristallisation (figure O). Une bonne cristallisation permettra une meilleure extraction et un meilleur signal sur bruit. C'est pourquoi, le nombre de couches est à étudier [11].

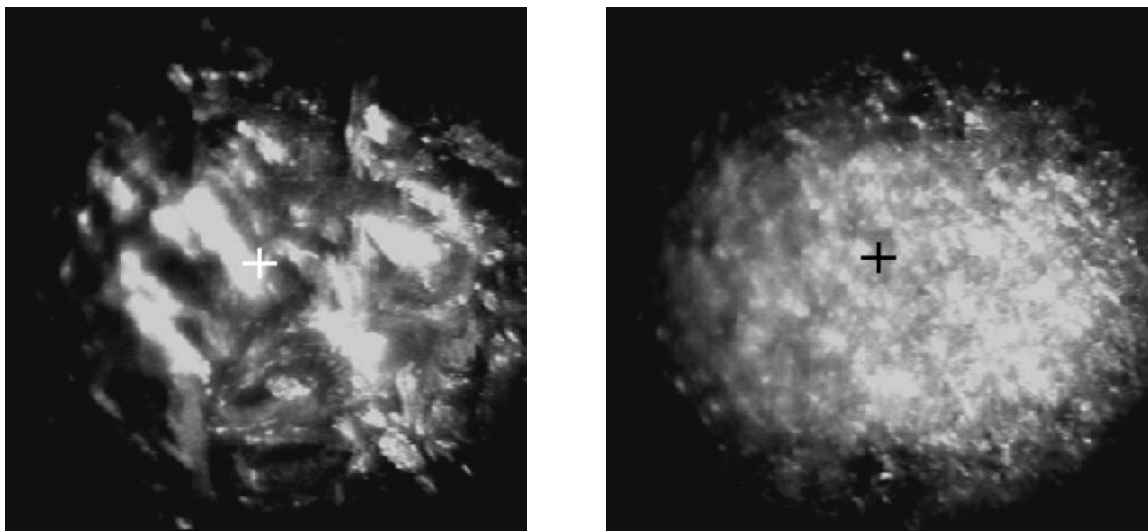


Figure O : Image de la cristallisation pour 10 couches (à gauche) et 15 couches (à droite) de DHB 30mg/ml 50% MeOH / 50% H₂O/ 0.1% TFA. On observe une meilleure cristallisation à 15 couches qui va permettre l'obtention d'un spectre MS sans bruit de fond.

En ce qui concerne l'application de la solution de 14 drogues, plusieurs tests ont été effectués dans le but de recouvrir le tissu de façon homogène. Le concept d'homogénéité est important dans ce contexte car le but de cette première partie est de développer un modèle de tissu s'apparentant à un cas réel. La condition trouvée pour déposer de manière homogène les drogues est de **sprayer 10 couches d'une solution de 1µg/ml de 14 drogues à une vitesse de 100µl/min pour toutes les couches**. Si l'application de cette solution se fait dans les normes, il doit apparaître une couverture homogène sur le tissu qu'on laissera sécher à température ambiante une quinzaine de minutes. « Homogène » signifie que les drogues sont réparties et détectées partout sur le tissu. L'exemple d'une bonne et mauvaise déposition de la cocaïne est montré à la figure P et Q.

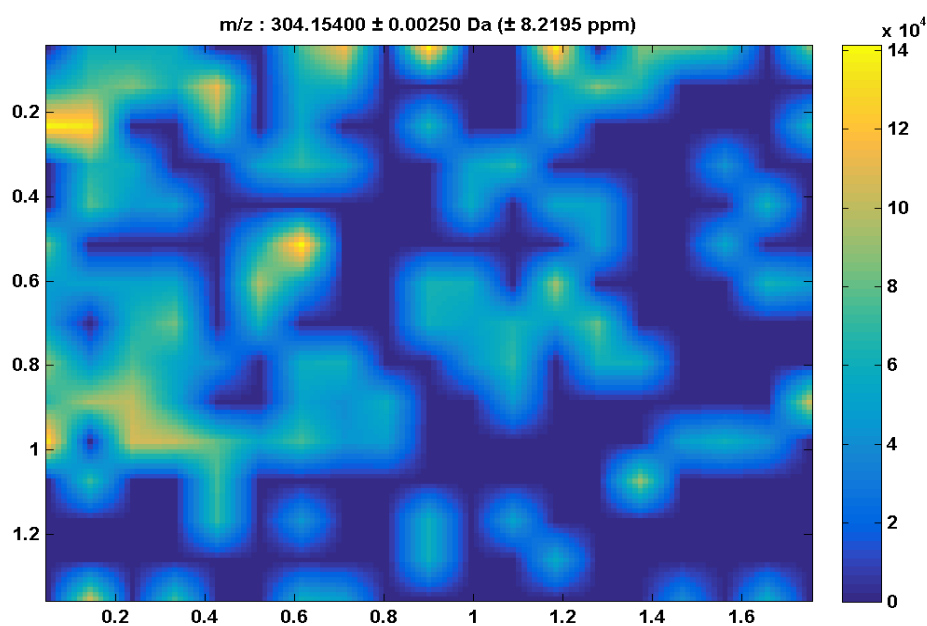


Figure P : Image obtenue pour la cocaïne avec un sprayage de 10 couches sur le tissu à 50 μ l/min pour chaque couche. L'intensité du signal est montrée à travers une échelle de couleur, jaune étant un signal intense et bleu un signal peu ou pas intense. Cette déposition n'est pas homogène car dans la zone jaune on obtient une intensité de 1.4×10^5 et dans la zone bleue, le signal disparaît. L'échelle de l'image est en [cm].

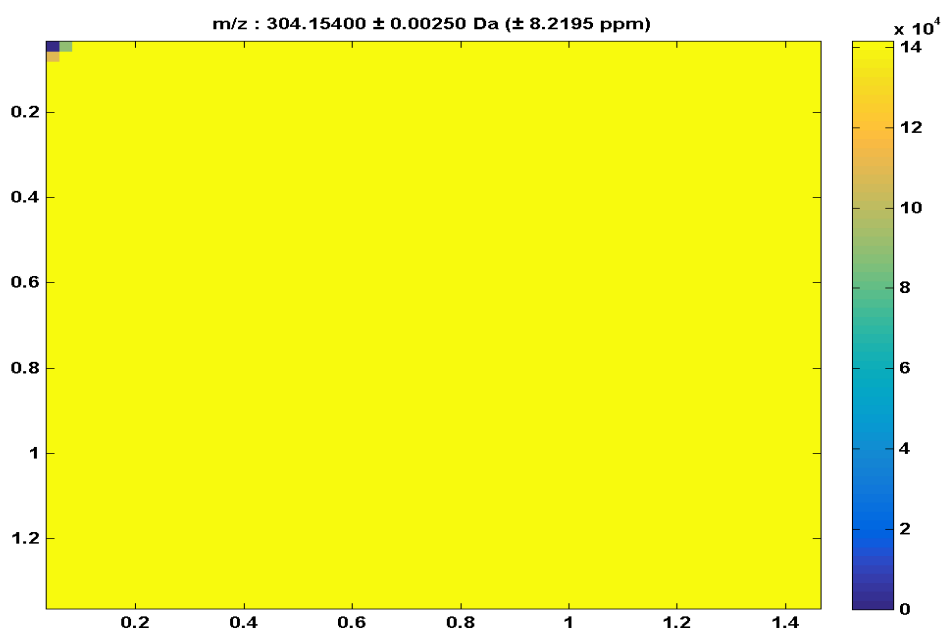


Figure Q : Image obtenue pour la cocaïne avec un sprayage de 10 couches sur le tissu à 100 μ l/min pour chaque couche. L'intensité du signal est montrée à travers une échelle de couleur, jaune étant un signal intense et bleu un signal peu ou pas intense. Cette déposition est homogène car l'entier du tissu est recouvert de solution de drogues d'intensité 1.4×10^5 . L'échelle de l'image est en [cm].

Le dopage du tissu dépend essentiellement de l'histologie du tissu c'est-à-dire de la variété, la structure et la composition cellulaire de ce dernier. Le foie de rat a été choisi pour son homogénéité mais il peut tout de même contenir des zones qui varient par leur composition moléculaire et donc modifier l'imprégnation des drogues. Cette imprégnation dépend également des propriétés physico-chimiques des drogues (le THC est une molécule très apolaire, l'amphétamine est une substance volatile...). La solution de drogues de 1µg/ml a été préparée dans 50%ACN / 50% H₂O / 0.1% TFA et peut être mieux absorbée dans certaines régions du tissu en fonction de sa polarité et où les conditions de « mouillage » sont optimales.

Le dopage du tissu dépend également du sprayage. Le sprayage sur le tissu a fonctionné en variant la vitesse et la puissance de sprayage. En sprayant une grande quantité sur le tissu (formation d'une couverture homogène), le tissu est largement recouvert de mélange pour pouvoir l'absorber gentiment. Le sprayage sous le tissu n'imprègne peut être pas le tissu du fait de son épaisseur (12µm) qui peut rendre difficile l'extraction. Une solution serait de couper des sections plus fines mais la manipulation du tissu est plus difficile à des épaisseurs plus petites. Une autre alternative serait de décongeler le tissu, de l'homogénéiser dans la solution de drogues et de le recongeler pour ensuite le découper. Cependant, il est possible de perdre l'histologie du tissu.

4.2 Optimisation de la détection

Les nombreuses expériences ont été effectuées sur 3 préparations différentes (3 sections de tissu) pour chaque condition et l'acquisition de 100 pixels a été répétée 3 fois sur 3 régions différentes du même tissu. Au total une acquisition de 900 pixels a été effectuée pour évaluer ainsi la répétabilité. La matrice choisie qui a donné de meilleures intensités pour le plus grand nombre de drogues est la matrice **DHB 30mg/ml à 50% MeOH / 50% H₂O / 0.1% TFA**. Les résultats figurent dans les tableaux E et F et dans les figures R. L'ensemble des données se trouve à l'annexe 7.3.

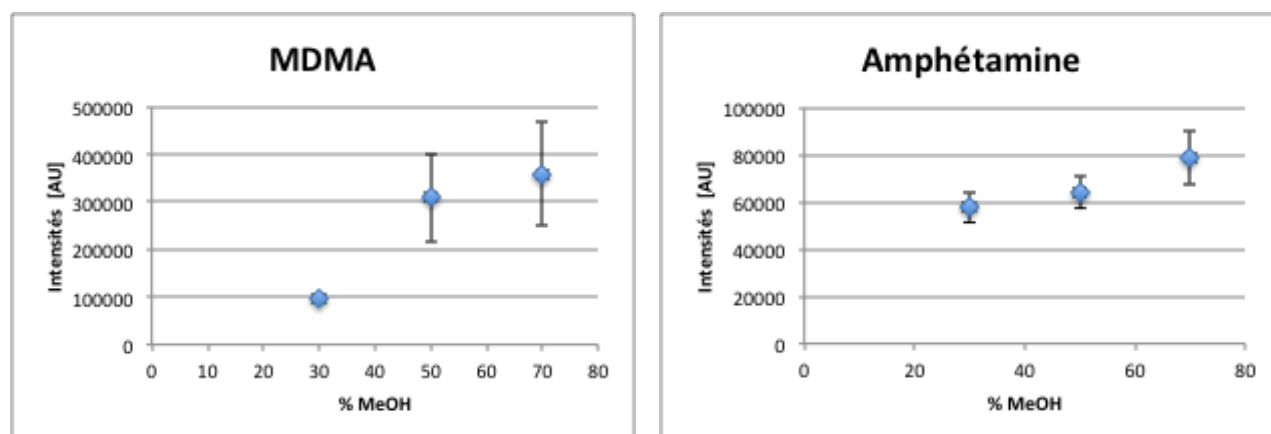
Tableau E : Intensités répétables obtenues pour les 14 drogues avec la matrice CHCA 15mg/ml diluée dans différents pourcentages d'acétonitrile.

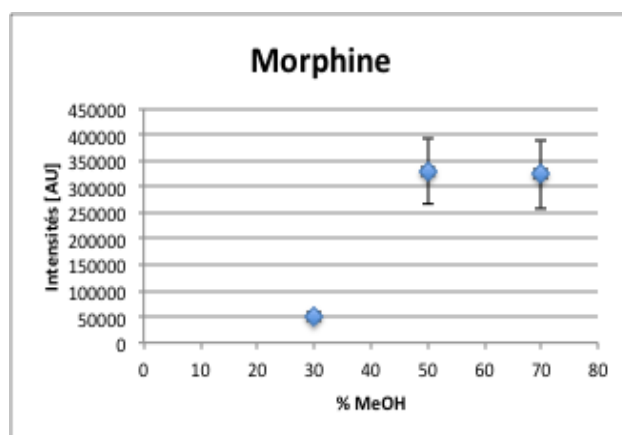
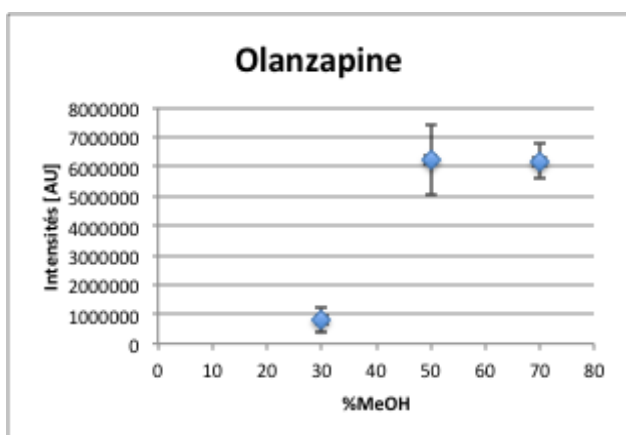
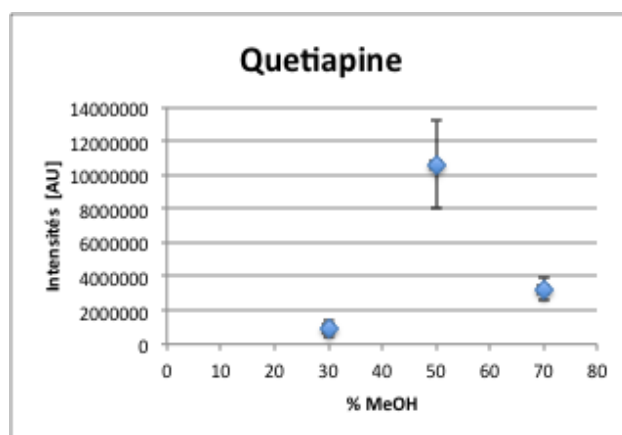
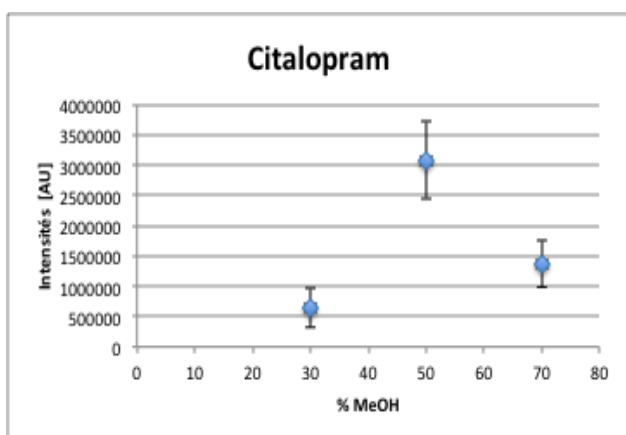
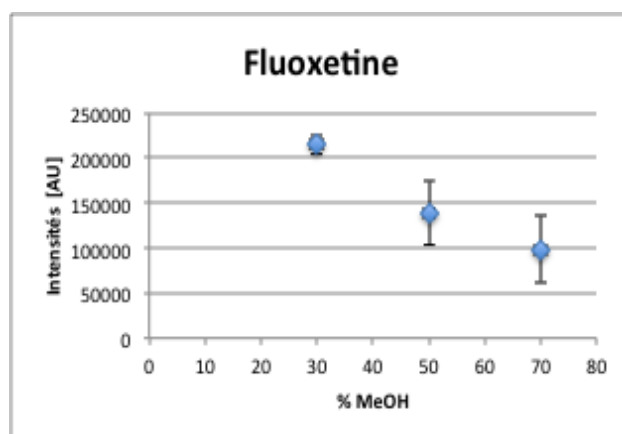
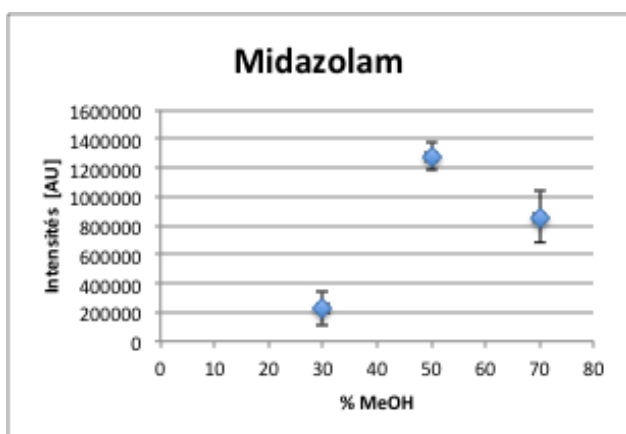
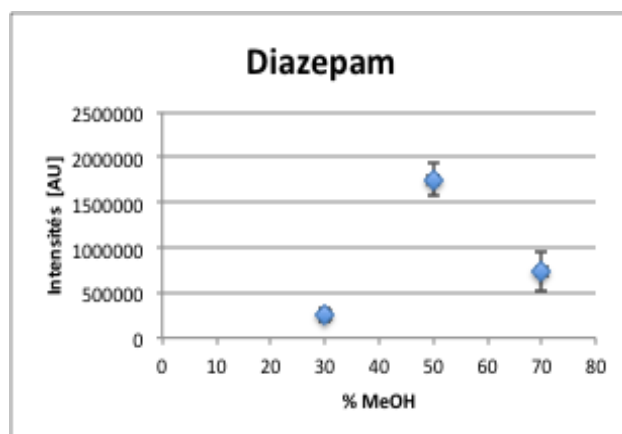
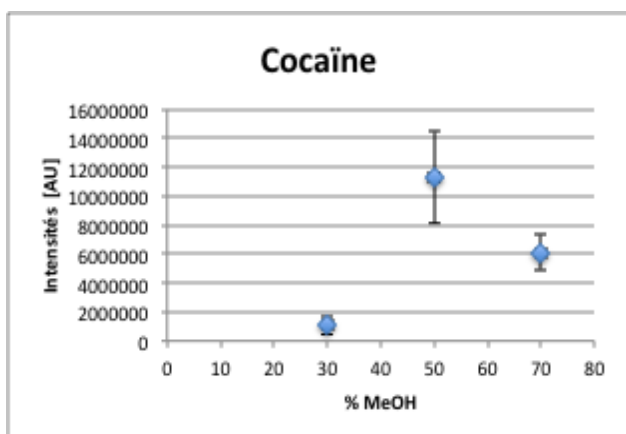
Intensités														
%ACN	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline	THC
30	32127	38769	60503	71007	44464	38913	41284	46289	97190	46433	39800	43974	40371	5058
50	39494	123269	535219	706746	868982	45013	734298	222827	1786914	415262	623551	221969	845069	18239
70	38316	46343	205586	249968	118454	40813	51889	87296	549218	45328	55984	50512	63178	4134

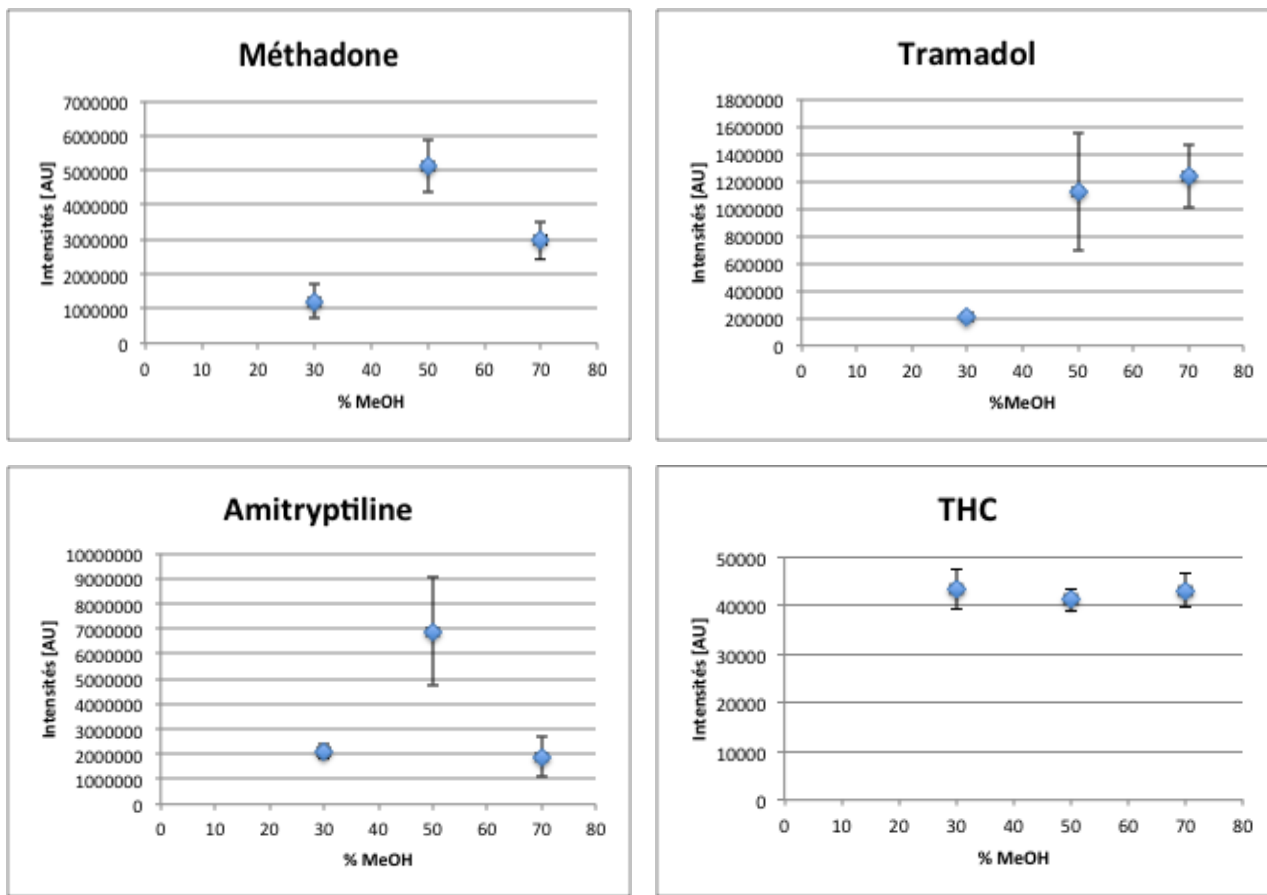
Tableau F : Intensités répétables obtenues pour les 14 drogues avec la matrice DHB 30mg/ml diluée dans différents pourcentages de méthanol.

Intensités														
%ACN	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline	THC
30	57758	94638	1070404	250373	227940	214242	650032	923644	812431	51510	1205099	202461	2095339	43340
50	64001	308823	11307776	1756807	1278876	139065	3077314	10634087	6234342	330075	5116150	1122530	6881991	41107
70	78453	357585	6088930	736492	859350	98036	1373271	3250269	6178838	324178	2961302	1233891	1904654	42970

Figures R : Effets du pourcentage de méthanol dans la matrice DHB 15mg/ml sur l'intensité du signal pour les 14 drogues







Premièrement, il est facile de constater que le **DHB** présente globalement pour toutes les drogues de meilleures intensités que le **CHCA** (tableau E et F). Pour recouvrir un maximum de drogues à détecter, le pourcentage de **50% MeOH** a été retenu. Même si l'erreur de mesure est plus grande, celui-ci présente de meilleures intensités en général pour la plupart des drogues (figures R). Cette condition reste un bon compromis pour extraire les molécules polaires et apolaires.

Le choix de la matrice est basé tout d'abord sur la longueur d'onde du laser qui est de 337nm (laser à azote N₂). Elle est également choisie selon le type de molécules à analyser (introduction tableau C). Cependant, il n'existe pas de théorie exacte quant au choix de la matrice qui s'appuie généralement sur des observations empiriques. Néanmoins, pour remplir le rôle de matrice, il faut qu'elle présente une absorbance à la longueur d'onde du laser utilisé, qu'elle soit de masse faible pour pouvoir être sublimer, qu'elle soit stable sous vide, qu'elle soit soluble dans les solvants utilisés compatibles avec l'analyte, qu'elle soit capable d'ioniser l'analyte et qu'elle n'ait aucune réactivité chimique [11]. Pour les drogues, on peut donc constater que le **DHB** extrait mieux que le **CHCA**. Dans la littérature, un groupe de recherche a démontré en comparant les spectres de masse que la matrice **DHB** montrait de meilleurs signaux que la matrice **CHCA** pour les peptides [41]. Une autre étude sur les protéines a montré que le **CHCA** donnait de meilleurs signaux que le **DHB** [34]. On comprend donc que le **CHCA** est meilleur pour des molécules de masse plus grande et le **DHB** pour des molécules de petite masse. Les concentrations des matrices sont les concentrations de saturation car selon la littérature, la saturation permet l'obtention de meilleurs signaux car la cristallisation est meilleure [34].

Il est possible d'observer également que certaines molécules sont mieux extraites que d'autres et sont donc plus sensibles, c'est le cas notamment de la cocaïne, le diazepam, le midazolam, de l'amitryptiline ou de la méthadone. D'autres substances comme le THC ou l'amphétamine donnent des signaux plus faibles en intensité. On peut expliquer cela par la polarité ou par les propriétés physiques. Le THC est une molécule très apolaire qui présente un logP de 7.29 et est donc plus difficile à extraire d'un mélange comportant un pourcentage aqueux important. Le THC est, de plus, souvent détecté en mode négatif [42] contrairement aux analyses effectuées qui ont été réalisées en mode positif. L'amphétamine quant à elle est une molécule plus polaire que le THC avec un logP de 1.85 cependant c'est une substance volatile, il se peut donc que lors de la déposition sur le tissu une partie de celle-ci se soit évaporée. Les logP des molécules ont été trouvés sur la DrugBank [43] et sont montrés dans le tableau G.

Tableau G : LogP des 14 drogues analysées. Plus le logP est élevé plus la molécule est apolaire.

Analyte	LogP
Morphine	0.90
MDMA	1.65
Amphétamine	1.85
Cocaïne	1.97
Diazepam	2.63
Tramadol	2.71
Quetiapine	2.93
Citalopram	3.58
Olanzapine	3.61
Midazolam	3.89
Fluoxetine	4.09
Méthadone	4.14
Amitryptiline	5.10
THC	7.29

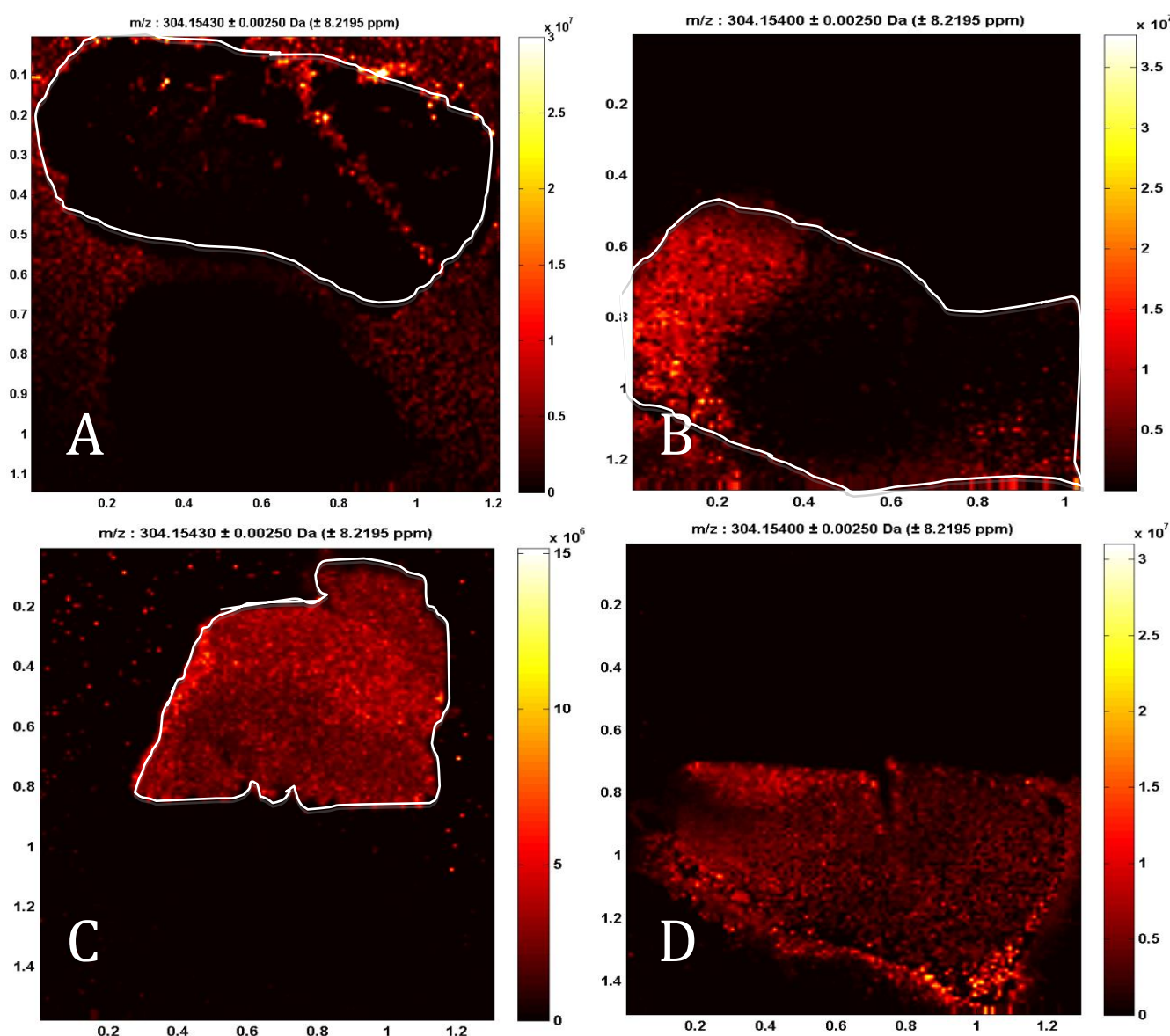
En ce qui concerne l'effet de la composition du solvant, il est possible d'observer, de manière générale pour la plupart des drogues, qu'à 50% de méthanol les intensités des signaux sont plus grandes mais que l'erreur l'est aussi (graphes en forme de cloche). A 30%, il y a plus de phase aqueuse ce qui conduit à une moins bonne cristallisation et donc une moins bonne extraction. A 70%, on obtient une meilleure cristallisation mais un moins bon rendement d'extraction qu'à 50%. Pour englober le plus grand nombre de drogues, se distinguant par leur polarité et propriétés physiques, et obtenir un signal intense, on restera sur une composition de **50% MeOH**.

Ensuite, l'effet de l'acide trifluoroacétique (TFA) a été étudié en analysant 0%, 0.1% et 0.3% de TFA (Annexe 7.3 figures 2). Le TFA, va générer l'ionisation des molécules en protonant les analytes. Dans l'étude de Richard M. Caprioli et son équipe, on opte pour une concentration entre 0.3 et 1% de TFA pour l'ionisation de protéines [34]. Dans le cas des drogues, l'effet du TFA n'est pas aussi significatif que le pourcentage du solvant mais tend à montrer qu'avec 0.1% de TFA on obtient de plus grandes intensités. Globalement, en augmentant le pourcentage de TFA, le signal diminue ce qui peut être dû à l'effet de suppression d'ions causé par une ionisation d'un grand nombre de molécules. On restera donc sur un pourcentage de **0.1% de TFA**.

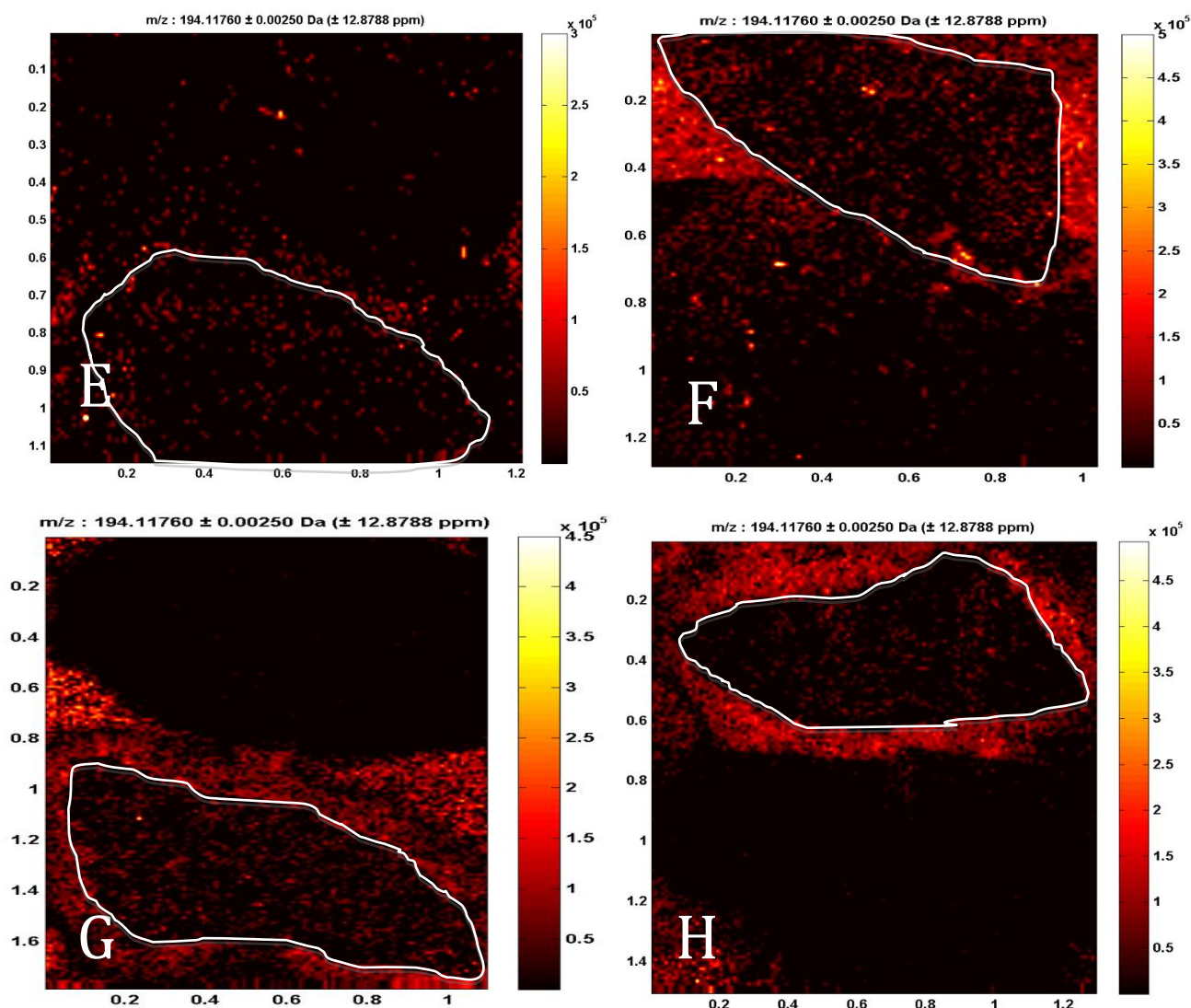
Pour conclure l'optimisation de la détection des drogues dans des sections tissulaires, des lavages avec des solutions tampons d'acétate d'ammonium 0.1M et 0.01M à pH 3 et 10 ont été expérimentés (Annexe 7.3 résumé tableau 58). La solution d'**acétate d'ammonium 0.01M à pH 10** a présenté de manière générale les meilleurs résultats en améliorant la sensibilité de toutes les drogues. Le lavage présente l'avantage de « nettoyer le tissu » des substances non-désirées (ici les sels endogènes) afin d'améliorer la détection des molécules recherchées. Une étude menée par A. Thomas a démontré que le lavage avec une solution organique et tamponnée peut améliorer considérablement la cristallisation et l'extraction pour la détection de protéines dans un rein et dans une section entière corporelle de fœtus de souris [44]. Un autre article montre l'utilisation de la solution d'acétate d'ammonium à différentes concentrations et pH pour la détection de deux composés pharmaceutiques, la cimétidine et l'imipramine [22]. Le pH et la concentration vont jouer sur la solubilité des molécules. Ainsi des molécules ayant des groupements basiques vont être neutralisées à pH élevé et les substances ayant des groupements acides seront neutralisées à pH acide. Une base par exemple sera plus facilement extraite en utilisant une solution acide car il y aura formation d'un ammonium qui sera soluble dans l'eau et vice versa. Il y aura donc une amélioration de la détection au pH où les molécules seront moins solubles car elles resteront sur le tissu et ne seront pas extraites avec le lavage aqueux. Etant donné que la plupart des drogues analysées contient plusieurs groupes azotés, elles seront moins solubles à pH élevé donc à pH 10. En effet, les résultats montrent une meilleure détection à pH 10 pour une majorité des drogues. La concentration va également influencer la solubilité des molécules selon leur polarité. Une molécule lipophile sera moins soluble dans une solution plus diluée car la composition en H₂O sera plus importante. De même, une molécule hydrophile sera moins soluble dans une solution plus concentrée. Ainsi une molécule comme le THC qui est très hydrophobe et quasiment pas détectée à 0.1M montre une amélioration de la sensibilité lors du lavage à 0.01M. Lorsque le logP est élevé, on entend que la molécule est plus soluble dans un solvant que dans l'eau. Ainsi, en analysant le tableau G on constate que les molécules possèdent toutes des logP positifs qui indiqueraient une plus faible solubilité à 0.01M donc une meilleure détection ce qui est le cas. Cependant, un lavage peut également provoquer une délocalisation des molécules. Il serait intéressant d'étudier le lavage appliqué à chaque analyte séparément et d'évaluer l'effet du lavage sur la délocalisation des molécules car leurs propriétés physico-chimiques sont différentes et elles réagissent de ce fait différemment aux conditions d'extraction acido-basique.

4.3 Imagerie de cas réels

Ayant optimiser la détection sur un échantillon artificiellement dopé, il a été intéressant de l'appliquer à des cas réels humains. De ce fait, les premières images ont d'abord été testées sur des sections de tissu de cerveau contenant de la cocaïne (figures S) et de foie contenant de la MDMA (Figures T). Puis, la meilleure condition a été expérimentée sur deux nouveaux cas de cerveau et de foie d'une personne ayant consommé de la quétiapine et de la trazodone (Figures U) et d'une autre ayant pris du midazolam (Annexe 7.4).



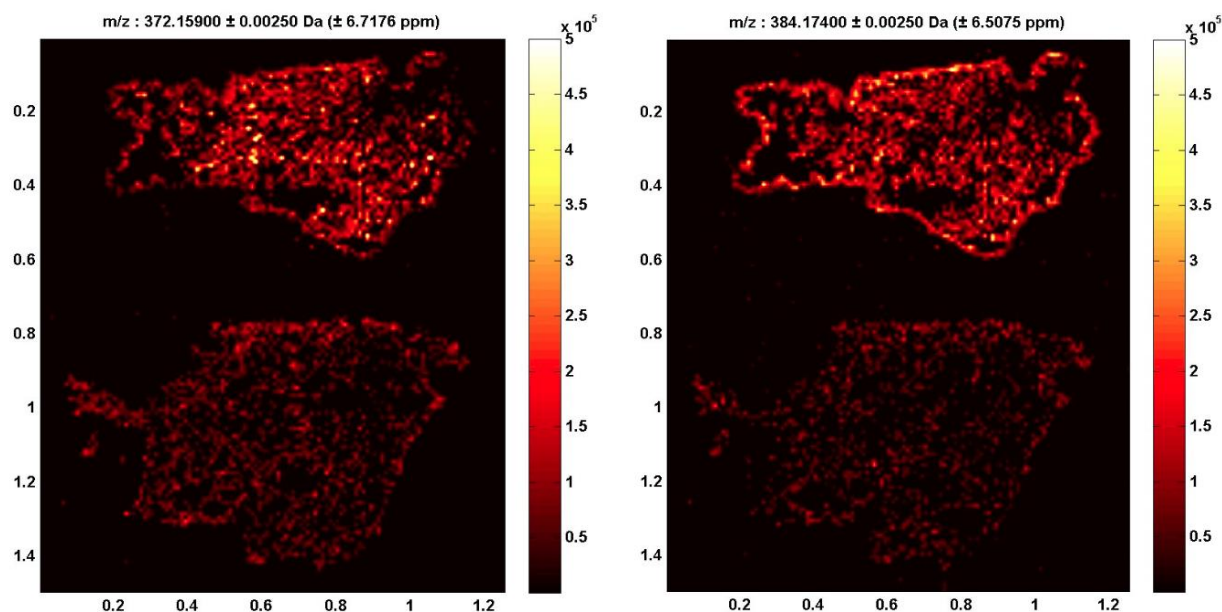
Figures S : Images obtenues par imagerie par spectrométrie de masse pour le cas d'un cerveau contaminé à la cocaïne avec (A) la matrice DHB 30mg/ml 50% MeOH / 50% H₂O / 0.1% TFA sans lavage tampon, (B) la matrice DHB 30mg/ml 50% MeOH / 50% H₂O / 0.1% TFA avec lavage tampon d'acétate d'ammonium à 0.01M et pH 10, (C) la matrice DHB 30mg/ml 60% MeOH / 40% H₂O / 0.1% TFA sans lavage tampon et (D) la matrice DHB 30mg/ml 70% MeOH / 30% H₂O / 0.1% TFA sans lavage tampon. Dans le cas de délocalisation, la délimitation du tissu est en blanc. L'échelle des images est en [cm]. L'intensité du signal est montrée à travers des échelles de couleur.



Figures T : Images obtenues par imagerie par spectrométrie de masse pour le cas d'un foie contaminé à la MDMA avec (E) la matrice DHB 30mg/ml 50% MeOH / 50% H₂O / 0.1% TFA sans lavage tampon, (F) la matrice DHB 30mg/ml 50% MeOH / 50% H₂O / 0.1% TFA avec lavage tampon d'acétate d'ammonium à 0.01M et pH 10, (G) la matrice DHB 30mg/ml 60% MeOH / 40% H₂O / 0.1% TFA sans lavage tampon et (H) la matrice DHB 30mg/ml 70% MeOH / 30% H₂O / 0.1% TFA sans lavage tampon. Dans le cas de délocalisation, la délimitation du tissu est en blanc. L'échelle des images est en [cm]. L'intensité du signal est montrée à travers des échelles de couleur.

Comme l'ont montrées les figures R, lors de l'optimisation, les images à 50% présentent de plus hautes intensités qu'à 70% pour la cocaïne et elles sont de même ordre de grandeur pour la MDMA. Cependant, on constate que la condition à 50% de MeOH provoque une délocalisation totale des molécules dans les deux cas. Comme prouvé précédemment, le lavage augmente l'intensité des signaux mais il serait intéressant d'essayer le lavage dans des conditions plus optimales ou il n'y aurait pas de délocalisation pour confirmer que le lavage n'y contribue pas également. La détection de la cocaïne à 70% est parfaite car elle ne montre aucune délocalisation mais les intensités sont plus faibles. La matrice DHB 30mg/ml dans 70% MeOH / 30% H₂O / 0.1% TFA a également permis de détecter la quétiapine, un antidépresseur n'ayant pas été optimisé, la trazodone (figures U) et le midazolam (Annexe 7.4). D'après ces expériences, on comprend que les conditions de préparation dépendent grandement des molécules et des tissus analysés mais 70% de méthanol semble être un bon compromis pour la localisation d'un grand nombre de

drogues par imagerie car la cristallisation est bonne ce qui permet un bon rendement d'extraction.



Figures U : Images obtenues par imagerie par spectrométrie de masse pour un foie (haut) et un cerveau (bas) d'un même cas contaminé à la trazodone (gauche) et à la quétiapine (droite) avec la matrice DHB 30mg/ml 70% MeOH / 30% H₂O / 0.1% TFA sans lavage tampon. L'échelle des images est en [cm]. L'intensité du signal est montrée à travers des échelles de couleur.

La cocaïne dans le cerveau ayant été détectée avec succès à 70% MeOH / 30% H₂O / 0.1% TFA, il a été intéressant d'un point de vue toxicologique d'observer également la localisation des métabolites de la cocaïne (figure V). La cocaïne est métabolisée rapidement par hydrolyse enzymatique et non enzymatique en deux métabolites majoritaires, la benzoylecgonine (BZE) et l'ecgonine méthyle ester (ME) mais également en d'autres métabolites comme la norcocaïne et le cocaéthylène (si présence d'alcool) qui sont en plus petite quantité. L'analyse de la cocaïne et ses métabolites est utile pour le dépistage de la consommation ou d'un point de vue toxicologique pour évaluer l'implication de cette drogue dans le décès d'un individu en médecine légale [45]. Les métabolites permettent de faciliter l'élimination d'un médicament ou d'une drogue en augmentant leur polarité. On retrouve ces métabolites notamment dans le sang, la salive et les urines [46]. On comprend, à travers cette expérience, la puissance d'un outil tel que l'imagerie par spectrométrie de masse pour la détection simultanée de plusieurs molécules. En une seule analyse, on peut ainsi acquérir un grand nombre de données pour localiser la cocaïne et ses métabolites dans un tissu cérébral. Il est difficile à première vue de différencier les isomères de constitution qui possèdent la même formule brute donc la même masse mais se différencient par leur enchaînement d'atomes, c'est le cas de la benzoylecgonine et de la norcocaïne qui possèdent la même masse mais sont des isomères de fonction. Néanmoins, on peut remédier à cela en effectuant une fragmentation MSⁿ qui va permettre la différenciation des molécules. On observe que les métabolites de la cocaïne se localisent en général aux mêmes endroits que la cocaïne mais on constate également qu'il n'y a pas de cocaéthylène dû à l'absence de consommation d'alcool.

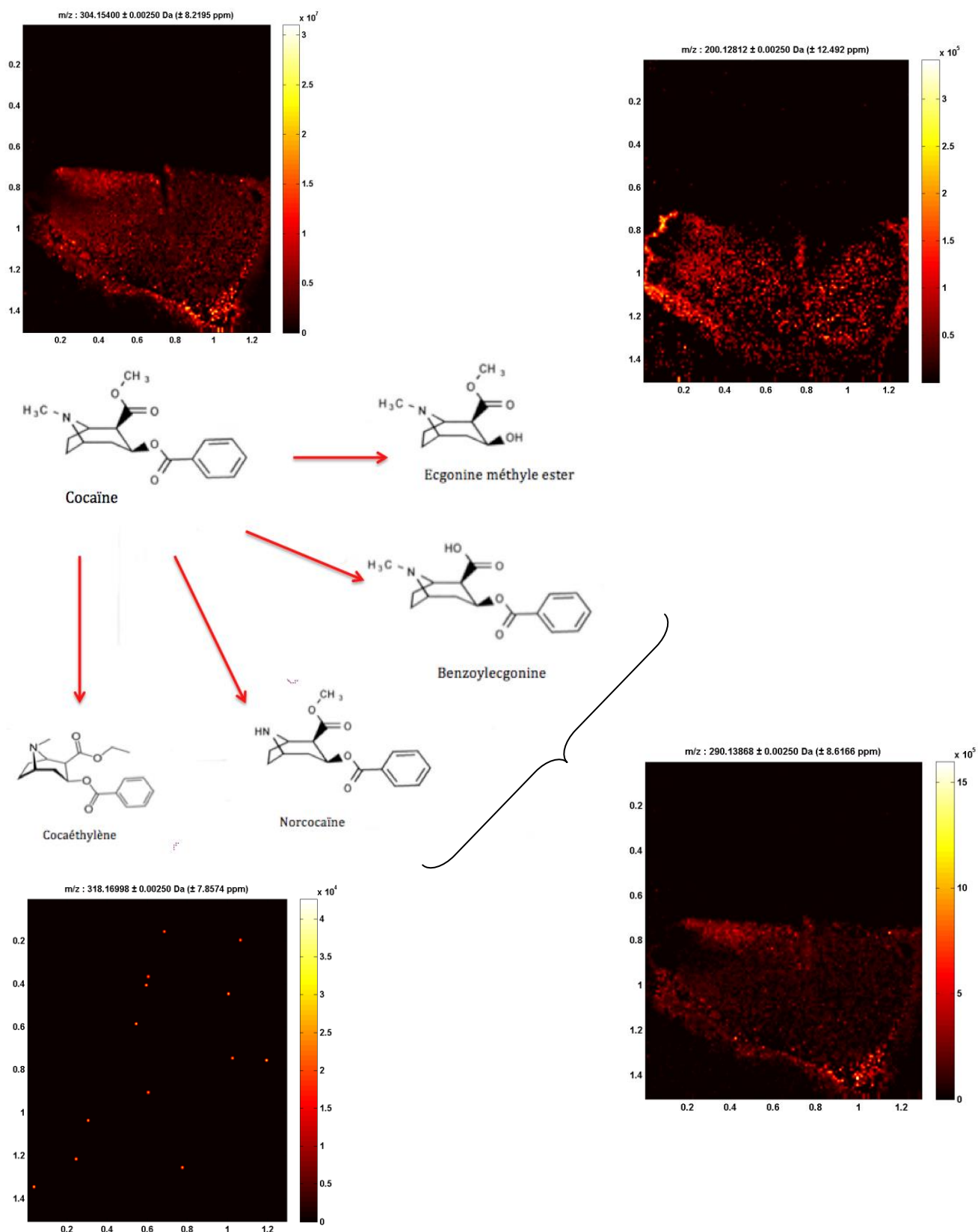


Figure V : Localisation de la cocaïne et ses métabolites dans un tissu cérébrale contaminé à la cocaïne. L'échelle des images est en [cm]. La benzoyllecgonine et la norcocaïne possèdent la même masse et génèrent de ce fait la même image. Elles peuvent être différenciées grâce à la fragmentation MS/MS.

4.4 Screening toxicologique

La méthode créée pour le screening toxicologique a permis de détecter 9 drogues sur le tissu dopé par la solution de 14 drogues de $1\mu\text{g/ml}$ dont la cocaïne, le diazepam, le midazolam, le citalopram, la quétiapine, l'olanzapine, la morphine, l'amitriptyline et la méthadone. L'amphétamine, la MDMA, le THC, la fluoxétine ainsi que le tramadol n'ont pas été détectés. Le résultat de l'olanzapine sur le tissu de foie de rat dopé est montré à la figure W et est comparé avec un spectre de référence obtenu à partir de Mzcloud [47]. Le reste des résultats se trouvent à l'annexe 7.5.

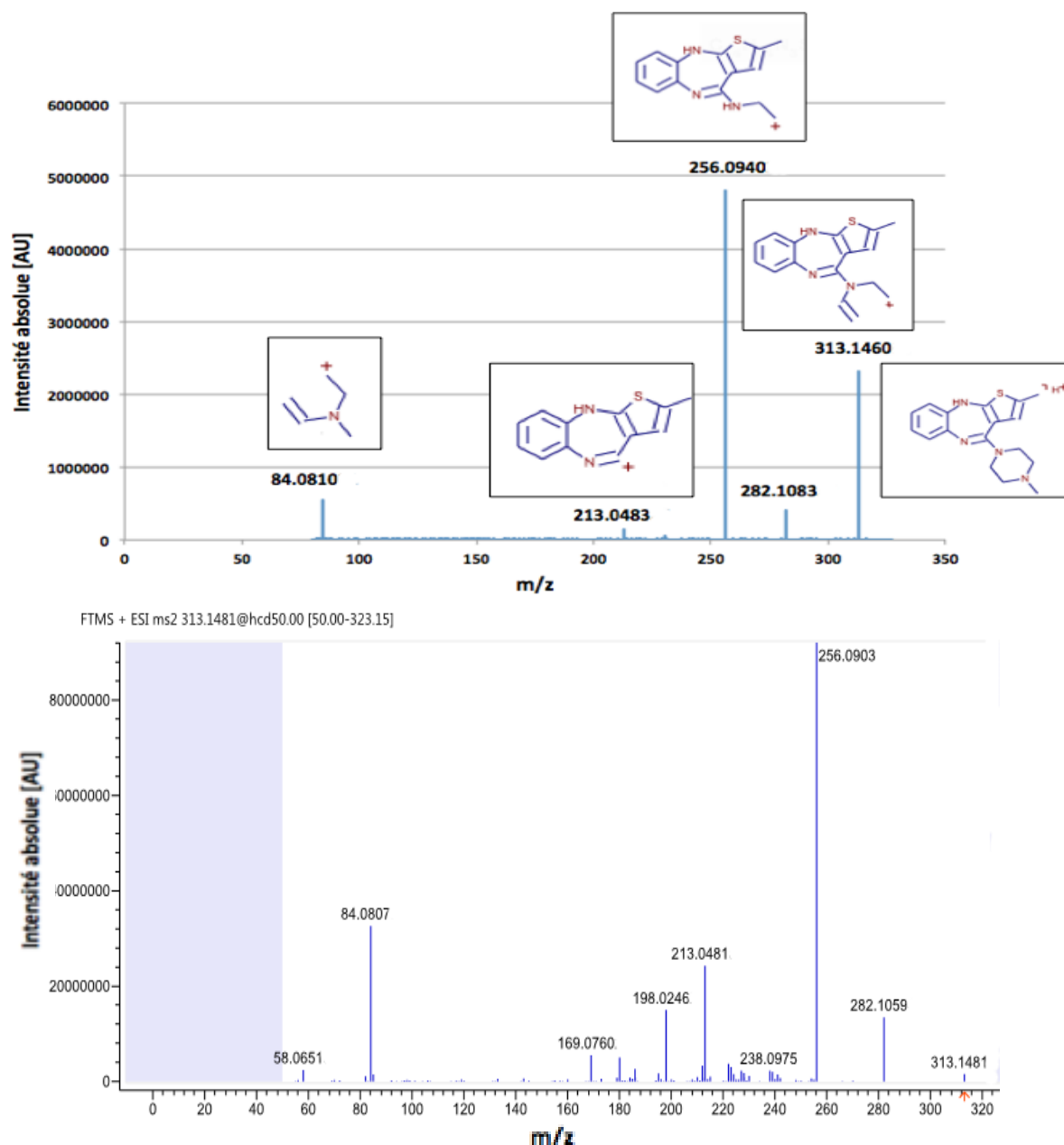


Figure W : Spectre de fragmentation MS² de l'olanzapine sur le foie de rat dopé obtenu par le screening toxicologique à 45 kJ/mol (en haut) et comparé au spectre de référence (en bas) effectué avec une énergie de 50.00 kJ/mol.

Concernant les cas réels humains, le screening toxicologique a fonctionné seulement pour la détection de cocaïne dans le cerveau (figure X) des cas investigués et nécessite des recherches plus approfondies.

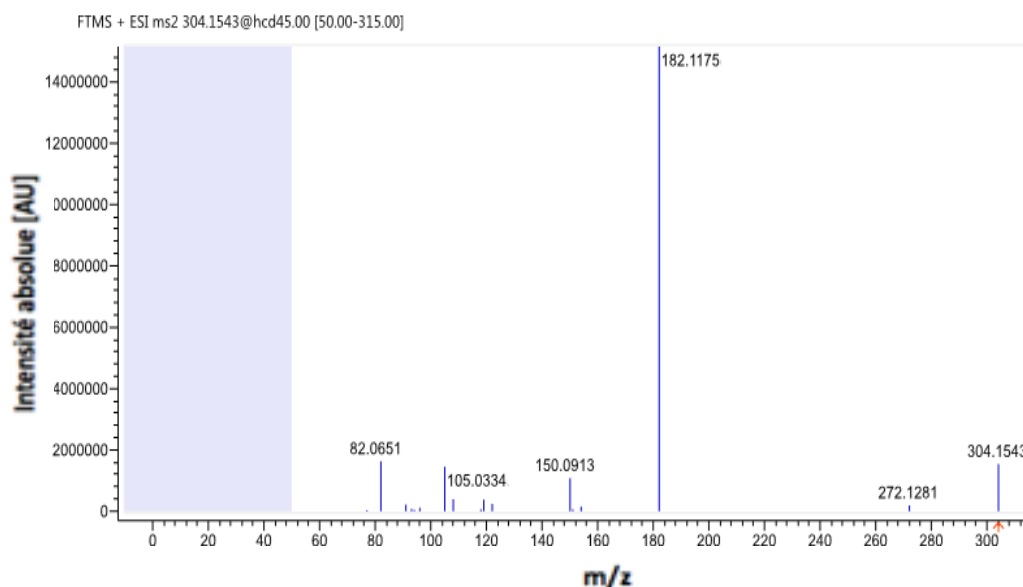
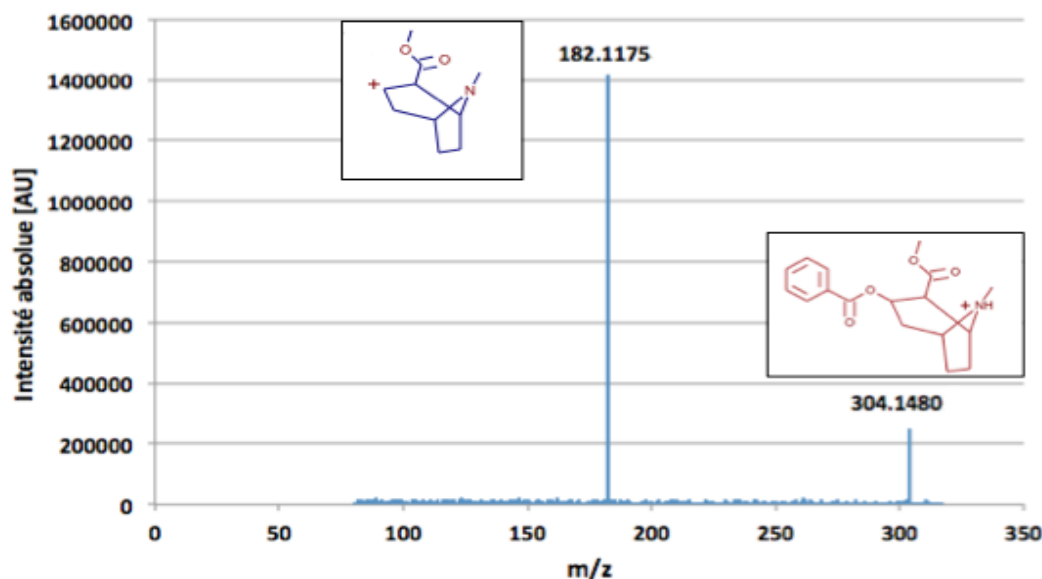


Figure X : Spectre de fragmentation MS² de la cocaïne obtenu par le screening toxicologique à 45 kJ/mol sur un cerveau d'un cas réel (en haut) et comparé au spectre de référence (en bas) effectué avec une énergie de 45 kJ/mol.

L'acquisition de pics d'intérêt en MS/MS dépend de la sensibilité et de la concentration de la drogue dans le tissu. Ainsi, elle ne permet pas la détection de la MDMA dans le cas réel ni dans le tissu dopé car les intensités sont faibles (5×10^4) contrairement à la cocaïne dont les intensités sont de l'ordre de 1×10^7 . Ainsi, la limite de sensibilité n'est pas atteinte pour déclencher l'acquisition en données dépendantes. De plus, la MDMA étant une molécule très polaire, elle va être facilement délocalisée et il sera plus difficile de la trouver sur le tissu à une condition de 70%. Il est important de souligner que les tissus analysés sont des cas post-mortem ce qui expliquerait que la qualité du tissu étant altérée, l'efficacité de la

préparation peut être modifiée [48]. Pour améliorer la méthode de screening toxicologique, il est possible d'augmenter ou de diminuer l'énergie de fragmentation pour obtenir plus ou moins de fragments caractéristiques pour l'identification. Il serait intéressant aussi d'effectuer un lavage du tissu qui va permettre l'augmentation de la sensibilité et ainsi la détection des molécules. En résumé, comme étudié lors de ce projet, la préparation reste un élément important pour l'imagerie mais joue également un rôle primordial pour le screening toxicologique car elle va influencer la sensibilité qui va permettre l'identification d'un analyte.

5. CONCLUSION

L'imagerie par spectrométrie de masse MALDI est une méthode de choix pour la détection simultanée de plusieurs molécules dans diverses sections tissulaires offrant ainsi une grande spécificité. Elle permet la détection des grandes molécules telles que les protéines ainsi que récemment de plus petites substances comme les drogues et médicaments grâce à la haute résolution. Contrairement à d'autres méthodes d'imagerie existantes, elle est dotée d'une préparation simple et efficace. En effet, la préparation de l'échantillon est le point clef en imagerie MALDI, elle est constituée de trois étapes (1. Manipulation de l'échantillon (approvisionnement, congélation et découpe de section) 2. Traitement du tissu (lavage) et 3. Application de la matrice) et va jouer un rôle important dans la détection en influençant la sensibilité et la résolution spatiale de l'analyse. Pour optimiser la détection de petites molécules, on peut donc jouer sur différents paramètres tels que le choix de la matrice, le pourcentage de solvant de dilution, le pourcentage de TFA ainsi que sur les lavages d'extraction acido-basique avec un tampon d'acétate d'ammonium.

Cependant, pour optimiser dans le but de visualiser la distribution de molécules sur un tissu, il est important si possible de travailler directement sur des cas réels et d'acquérir des images entières de sections tissulaires car elles montrent directement une possible délocalisation des analytes. Les paramètres de préparation varient en fonction des drogues et des tissus. Les propriétés physico-chimiques de la molécule, la variété des tissus, leur composition cellulaire et leurs histologies sont des facteurs qui vont jouer sur l'absorption des analytes et changer ainsi le protocole de préparation.

Afin d'identifier une molécule in situ sur un tissu dans le cas d'un screening toxicologique à l'aide d'acquisitions en données dépendantes (full scan suivi d'une fragmentation des molécules d'intérêts), il peut s'avérer intéressant d'optimiser la préparation au préalable sur un tissu artificiellement dopé et d'utiliser les conditions optimales, qui donnent les meilleures intensités et la meilleure sensibilité, sur des cas réels. Le screening toxicologique reste une stratégie analytique connue et très utilisée dans le domaine forensique dans le but d'identifier rapidement des molécules toxiques pouvant avoir joué un rôle dans le décès d'une personne ou ayant influencé son comportement.

Par conséquent, le développement et l'optimisation d'une méthode sur l'IMS MALDI pour la détection et l'identification de plusieurs drogues et médicaments permettrait d'effectuer des analyses toxicologiques plus rapides que les méthodes existantes (ex : HPLC-MS/MS).

Finalement, l'imagerie par spectrométrie de masse MALDI est reconnue pour être une technique qualitative innovante pour la détection spatiale et l'observation de molécules sur des sections tissulaires. Cependant, ces dernières années, de nombreuses études ont été développées pour non seulement détecter mais également pour doser des analytes sur des tissus. En perspective, il serait donc intéressant après avoir optimisée la détection dans un cas réel, de quantifier les molécules présentes.

6. BIBLIOGRAPHIE

- [1] J.-F. Bruch, D. Sizaret, A. Brault, F. Tabareau-Delalande, F. Maître, Étude historique du microscope optique : Des premières lentilles du XVI^e siècle aux techniques de super-résolution et de lecture automatisée, *Rev. Francoph. Lab.* 2015 (2015) 67–79. doi:10.1016/S1773-035X(15)72789-9.
- [2] J. Stauber, M. Salzert, I. Fournier, *Imagerie MALDI: nouveaux développements et applications cliniques*, Université de Lille1, Lille, France, 2013.
- [3] B. Domon, R. Aebersold, Mass spectrometry and protein analysis, *Science*. 312 (2006) 212–217. doi:10.1126/science.1124619.
- [4] E.I. Chen, J.R. Yates, Cancer proteomics by quantitative shotgun proteomics, *Mol. Oncol.* 1 (2007) 144–159. doi:10.1016/j.molonc.2007.05.001.
- [5] S. Castellino, M.R. Groseclose, D. Wagner, MALDI imaging mass spectrometry: bridging biology and chemistry in drug development, *Bioanalysis*. 3 (2011) 2427–2441. doi:10.4155/bio.11.232.
- [6] B. Prideaux, M. Stoeckli, Mass spectrometry imaging for drug distribution studies, *J. Proteomics*. 75 (2012) 4999–5013. doi:10.1016/j.jprot.2012.07.028.
- [7] P. Chaurand, M.E. Sanders, R.A. Jensen, R.M. Caprioli, Proteomics in diagnostic pathology: profiling and imaging proteins directly in tissue sections, *Am. J. Pathol.* 165 (2004) 1057–1068. doi:10.1016/S0002-9440(10)63367-6.
- [8] P. Chaurand, J.L. Norris, D.S. Cornett, J.A. Mobley, R.M. Caprioli, New developments in profiling and imaging of proteins from tissue sections by MALDI mass spectrometry, *J. Proteome Res.* 5 (2006) 2889–2900. doi:10.1021/pr060346u.
- [9] L. MacAleese, J. Stauber, R.M.A. Heeren, Perspectives for imaging mass spectrometry in the proteomics landscape, *Proteomics*. 9 (2009) 819–834. doi:10.1002/pmic.200800363.
- [10] D. Touboul, A. Brunelle, D.P. Germain, O. Laprévote, Apport d'une nouvelle technique d'imagerie pour le diagnostic : la spectrométrie de masse, /data/revues/07554982/00360HS1/82/. (2008). <http://www.em-consulte.com/en/article/103383> (accessed July 8, 2016).
- [11] E. de Hoffmann, V. Stroobant, *Spectrométrie de masse: cours et exercices corrigés*, Dunod, 2005.
- [12] M. Stoeckli, P. Chaurand, D.E. Hallahan, R.M. Caprioli, Imaging mass spectrometry: A new technology for the analysis of protein expression in mammalian tissues, *Nat. Med.* 7 (2001) 493–496. doi:10.1038/86573.
- [13] S.R. Shanta, Y.-J. Kim, Y.-H. Kim, K.-P. Kim, Application of MALDI Tissue Imaging of Drugs and Metabolites: A New Frontier for Molecular Histology, *Biomol. Ther.* 19 (2011) 149–154. doi:10.4062/biomolther.2011.19.2.149.
- [14] M.L. Reyzer, Y. Hsieh, K. Ng, W.A. Korfmacher, R.M. Caprioli, Direct analysis of drug candidates in tissue by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry, *J. Mass Spectrom. JMS.* 38 (2003) 1081–1092. doi:10.1002/jms.525.
- [15] S. Khatib-Shahidi, M. Andersson, J.L. Herman, T.A. Gillespie, R.M. Caprioli, Direct molecular analysis of whole-body animal tissue sections by imaging MALDI mass spectrometry, *Anal. Chem.* 78 (2006) 6448–6456. doi:10.1021/ac060788p
- [16] L. Signor, E. Varesio, R.F. Staack, V. Starke, W.F. Richter, G. Hopfgartner, Analysis of erlotinib and its metabolites in rat tissue sections by MALDI quadrupole time-of-flight mass spectrometry, *J. Mass Spectrom. JMS.* 42 (2007) 900–909. doi:10.1002/jms.1225.
- [17] Y. Hsieh, F. Li, W. Korfmacher, Mapping Pharmaceuticals in Rat Brain Sections Using

- MALDI Imaging Mass Spectrometry, in: S.S. Rubakhin, J.V. Sweedler (Eds.), *Mass Spectrom. Imaging*, Humana Press, 2010: pp. 147–158. http://dx.doi.org/10.1007/978-1-60761-746-4_8 (accessed July 10, 2016).
- [18] H.-Y.J. Wang, S.N. Jackson, J. McEuen, A.S. Woods, Localization and Analyses of Small Drug Molecules in Rat Brain Tissue Sections, *Anal. Chem.* 77 (2005) 6682–6686. doi:10.1021/ac050868d.
- [19] D.A. Pirman, R.F. Reich, A. Kiss, R.M.A. Heeren, R.A. Yost, Quantitative MALDI Tandem Mass Spectrometric Imaging of Cocaine from Brain Tissue with a Deuterated Internal Standard, *Anal. Chem.* 85 (2013) 1081–1089. doi:10.1021/ac302960j.
- [20] P. Källback, M. Shariatgorji, A. Nilsson, P.E. Andrén, Novel mass spectrometry imaging software assisting labeled normalization and quantitation of drugs and neuropeptides directly in tissue sections, *J. Proteomics*. 75 (2012) 4941–4951. doi:10.1016/j.jprot.2012.07.034.
- [21] Y. Yamada, K. Hidefumi, H. Shion, M. Oshikata, Y. Haramaki, Distribution of chloroquine in ocular tissue of pigmented rat using matrix-assisted laser desorption/ionization imaging quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry, *Rapid Commun. Mass Spectrom. RCM*. 25 (2011) 1600–1608. doi:10.1002/rcm.5021.
- [22] M. Shariatgorji, P. Källback, L. Gustavsson, N. Schintu, P. Svenningsson, R.J.A. Goodwin, P.E. Andren, Controlled-pH tissue cleanup protocol for signal enhancement of small molecule drugs analyzed by MALDI-MS imaging, *Anal. Chem.* 84 (2012) 4603–4607. doi:10.1021/ac203322q.
- [23] R.F. Reich, K. Cudzilo, J.A. Levisky, R.A. Yost, Quantitative MALDI-MS_n Analysis of Cocaine in the Autopsied Brain of a Human Cocaine User Employing a Wide Isolation Window and Internal Standards, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 21 (2010) 564–571. doi:10.1016/j.jasms.2009.12.014.
- [24] Y. Hsieh, R. Casale, E. Fukuda, J. Chen, I. Knemeyer, J. Wingate, R. Morrison, W. Korfmacher, Matrix-assisted laser desorption/ionization imaging mass spectrometry for direct measurement of clozapine in rat brain tissue, *Rapid Commun. Mass Spectrom. RCM*. 20 (2006) 965–972. doi:10.1002/rcm.2397.
- [25] G. Marko-Varga, T.E. Fehniger, M. Rezeli, B. Döme, T. Laurell, A. Végvári, Drug localization in different lung cancer phenotypes by MALDI mass spectrometry imaging, *J. Proteomics*. 74 (2011) 982–992. doi:10.1016/j.jprot.2011.03.019.
- [26] A. Römpf, S. Guenther, Z. Takats, B. Spengler, Mass spectrometry imaging with high resolution in mass and space (HR2), *Anal. Bioanal. Chem.* 401 (2011) 65–73. doi:10.1007/s00216-011-4990-7.
- [27] G. Hamm, D. Bonnel, R. Legouffe, F. Pamelard, J.-M. Delbos, F. Bouzom, J. Stauber, Quantitative mass spectrometry imaging of propranolol and olanzapine using tissue extinction calculation as normalization factor, *J. Proteomics*. 75 (2012) 4952–4961. doi:10.1016/j.jprot.2012.07.035.
- [28] S.L. Koeniger, N. Talaty, Y. Luo, D. Ready, M. Voorbach, T. Seifert, S. Cepa, J.A. Fagerland, J. Bouska, W. Buck, R.W. Johnson, S. Spanton, A quantitation method for mass spectrometry imaging, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 25 (2011) 503–510. doi:10.1002/rcm.4891.
- [29] J.L. Norris, R.M. Caprioli, Analysis of Tissue Specimens by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Imaging Mass Spectrometry in Biological and Clinical Research, *Chem. Rev.* 113 (2013) 2309–2342. doi:10.1021/cr3004295.
- [30] A. Thomas, P. Chaurand, Advances in tissue section preparation for MALDI imaging MS, *Bioanalysis*. 6 (2014) 967–982. doi:10.4155/bio.14.63.
- [31] Frozen Tissue Section Method and Technique, (n.d.). http://www.ihcworld.com/_protocols/histology/frozen_section.htm (accessed July 11, 2016).
- [32] P.M. Angel, J.M. Spraggins, H.S. Baldwin, R. Caprioli, Enhanced sensitivity for high

- spatial resolution lipid analysis by negative ion mode matrix assisted laser desorption ionization imaging mass spectrometry, *Anal. Chem.* 84 (2012) 1557–1564. doi:10.1021/ac202383m.
- [33] A. Thomas, J.L. Charbonneau, E. Fournaise, P. Chaurand, Sublimation of new matrix candidates for high spatial resolution imaging mass spectrometry of lipids: enhanced information in both positive and negative polarities after 1,5-diaminonaphthalene deposition, *Anal. Chem.* 84 (2012) 2048–2054. doi:10.1021/ac2033547.
- [34] S.A. Schwartz, M.L. Reyzer, R.M. Caprioli, Direct tissue analysis using matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry: practical aspects of sample preparation, *J. Mass Spectrom. JMS.* 38 (2003) 699–708. doi:10.1002/jms.505.
- [35] A. Végvári, T.E. Fehniger, L. Gustavsson, A. Nilsson, P.E. Andrén, K. Kenne, J. Nilsson, T. Laurell, G. Marko-Varga, Essential tactics of tissue preparation and matrix nano-spotting for successful compound imaging mass spectrometry, *J. Proteomics.* 73 (2010) 1270–1278. doi:10.1016/j.jprot.2010.02.021.
- [36] Brochure - LTQ Orbitrap XL Mass Spectrometer - LTQ Orbitrap XL_1.pdf, (n.d.). http://www.med.nagoya-u.ac.jp/kiki/instrument/catalog/LTQ%20Orbitrap%20XL_1.pdf (accessed July 24, 2016).
- [37] C.A. Mueller, W. Weinmann, S. Dresen, A. Schreiber, M. Gergov, Development of a multi-target screening analysis for 301 drugs using a QTrap liquid chromatography/tandem mass spectrometry system and automated library searching, *Rapid Commun. Mass Spectrom. RCM.* 19 (2005) 1332–1338. doi:10.1002/rcm.1934.
- [38] A.R. Korte, Y.J. Lee, Multiplex mass spectrometric imaging with polarity switching for concurrent acquisition of positive and negative ion images, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 24 (2013) 949–955. doi:10.1007/s13361-013-0613-1.
- [39] T. Joye, Interest of MALDI-HRMS technology in forensic toxicology and chemistry, (2015).
- [40] R.R. Landgraf, T.J. Garrett, M.C.P. Conaway, N.A. Calcutt, P.W. Stacpoole, R.A. Yost, Considerations for quantification of lipids in nerve tissue using matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometric imaging, *Rapid Commun. Mass Spectrom. RCM.* 25 (2011) 3178–3184. doi:10.1002/rcm.5189.
- [41] H. Katayama, T. Nagasu, Y. Oda, Improvement of in-gel digestion protocol for peptide mass fingerprinting by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 15 (2001) 1416–1421. doi:10.1002/rcm.379.
- [42] D. Wilkins, H. Haughey, E. Cone, M. Huestis, R. Foltz, D. Rollins, Quantitative analysis of THC, 11-OH-THC, and THCCOOH in human hair by negative ion chemical ionization mass spectrometry, *J. Anal. Toxicol.* 19 (1995) 483–491.
- [43] DrugBank, (n.d.). <http://www.drugbank.ca/> (accessed July 30, 2016).
- [44] A. Thomas, N.H. Patterson, J. Laveaux Charbonneau, P. Chaurand, Orthogonal organic and aqueous-based washes of tissue sections to enhance protein sensitivity by MALDI imaging mass spectrometry, *J. Mass Spectrom.* 48 (2013) 42–48. doi:10.1002/jms.3114.
- [45] M.B. Amar, L. Léonard, Les psychotropes: pharmacologie et toxicomanie, PUM, 2002.
- [46] R.A. Jufer, A. Wstadik, S.L. Walsh, B.S. Levine, E.J. Cone, Elimination of Cocaine and Metabolites in Plasma, Saliva, and Urine Following Repeated Oral Administration to Human Volunteers, *J. Anal. Toxicol.* 24 (2000) 467–477. doi:10.1093/jat/24.7.467.
- [47] mzCloud – Advanced Mass Spectral Database, (n.d.). <https://www.mzcloud.org/> (accessed August 10, 2016).
- [48] N.H. Patterson, A. Thomas, P. Chaurand, Monitoring time-dependent degradation of phospholipids in sectioned tissues by MALDI imaging mass spectrometry, *J. Mass Spectrom. JMS.* 49 (2014) 622–627. doi:10.1002/jms.3382.

7. ANNEXES

7.1 Appareillage MALDI LTQ ORBITRAP

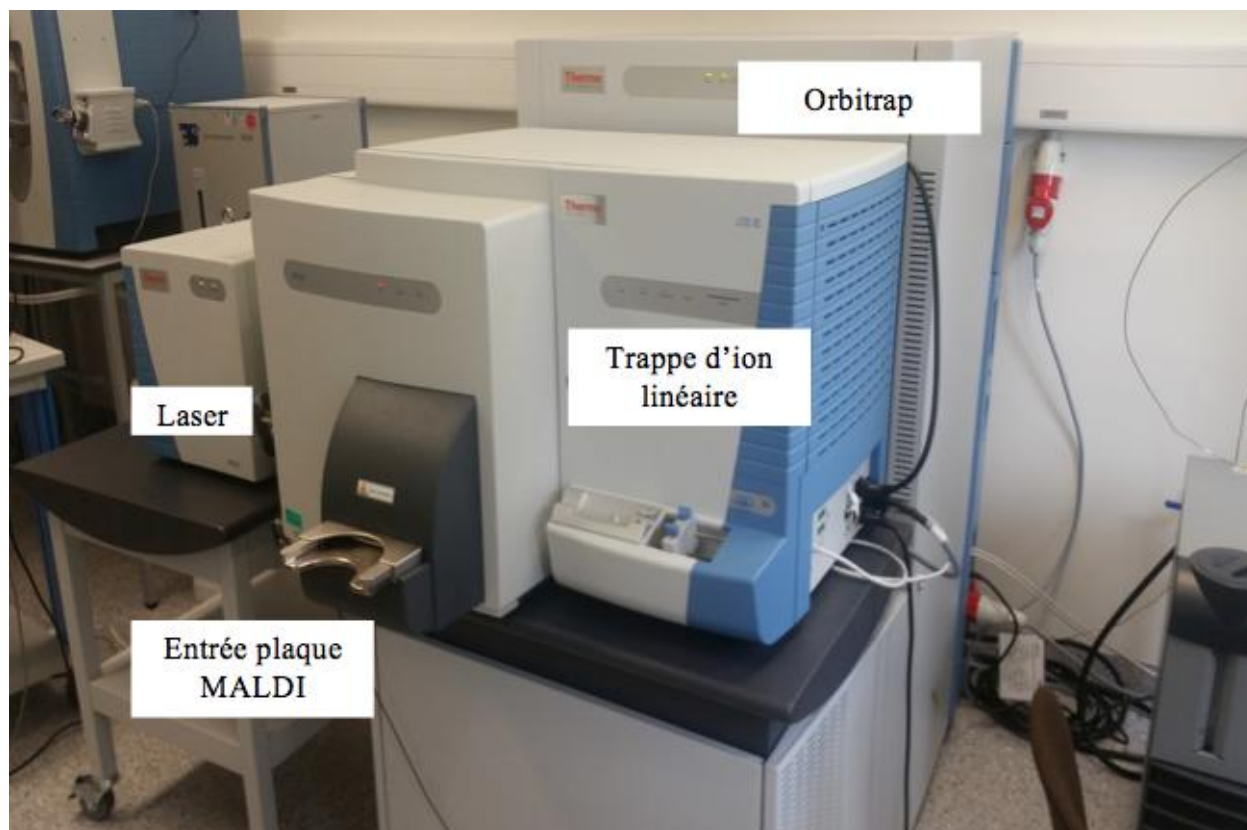










Figure 1 : spectromètre de masse LTQ Orbitrap XL pour l'imagerie MALDI qui se trouve dans le laboratoire de l'unité de toxicologie et chimie forensique.

7.2 Produits et sécurité

Tableau 1 : produits utilisés et sécurité

Produits	Utilisation	Toxicité	Fournisseur	Référence
Acide 2,5-dihydroxybenzoïque (≥99.0% HPLC)	matrice		Sigma-Aldrich	85707-1G-F
Acide α-cyano-4-hydroxycinnamique (≥99.0% HPLC)	matrice		Fluka Analytical	70990-1G-F
Méthanol absolu (ULC/MS-CC/SFC)	Matrice, drogues		Biosolve	136841
Acétonitrile (ULC/MS-CC/SFC)	Matrice, drogues		Biosolve	1204101
Eau (ULC/MS-CC/SFC)	Matrice, drogues		Biosolve	232141
Acide trifluoroacétique	Matrice		Biosolve	202341
Hydroxyde d'ammonium 25%	Tampon lavage		Fluka Analytical	09861
Acide acétique (≥99.8% HPLC)	Tampon lavage		Sigma-Aldrich	33209
Acétate d'ammonium (≥98%)	Tampon lavage		Sigma-Aldrich	32301-100G
OCT tissue freezing medium	découpe		Leica Biosystems	14020108926
Amphétamine	standard		Lipomed	AMP-95-HC-1LM
MDMA	standard		Lipomed	MDM-94-HC-1LM
Citalopram	standard		Lipomed	CTL-1065-HB-1LM
Quetiapine	standard		Lipomed	QUE-1200-FU-1LM
Midazolam	standard		Lipomed	MID-111-FB-1LM
Cocaïne	standard		Lipomed	COC-156-FB-1LA
Diazepam	standard		Lipomed	DIA-107-1LM
Olanzapine	standard		Lipomed	OLZ-1064-FB
Fluoxetine	standard		Cerilliant	F-918
Morphine	standard		Lipomed	M-35-FB-1LM
Méthadone	standard		Lipomed	MET-637-HC-1LM
Tramadol	standard		Lipomed	TRA-779-HC-1LM
Amitriptyline	standard		Cerilliant	A-923

7.3 Optimisation de la détection

Résultats pour la **répétabilité** obtenus avec 10 couches de **CHCA 15mg/ml dans 30%ACN / 70%H₂O / 0.1%TFA** sprayées à couche 1 : 10ml/min, couche 2 : 20ml/min, couche 3 : 30ml/min et couche 4+ : 40ml/min.

Tableau 2: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 1 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice CHCA 15mg/ml dans 30%ACN / 70%H₂O / 0.1%TFA.

Tissu 1, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	36741	0	52478	42858	46174	428	43354	43754	92726	45524	40215	41787	37358	36983
Ecart-type intensités	0	0	19711	10658	206	4284	855	8725	55697	0	2907	440	966	1009
Coefficient variation [%]	0	0	38	25	0	1000	2	20	60	0	7	1	3	3

Tissu 1, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	36528	43422	61587	56640	47180	48678	41475	46536	108162	0	45948	38102	66135	48043
Ecart-type intensités	1956	784	31825	51290	799	0	3189	10461	60440	0	2454	3240	2308	4408
Coefficient variation [%]	5	2	52	91	2	0	8	22	56	0	5	9	3	9

Tissu 1, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	36057	42479	75796	72373	36434	44387	38045	52780	153876	0	40379	39604	38086	40613
Ecart-type intensités	2336	517	58921	49534	9568	813	10245	34588	173410	0	11180	6095	0	3576
Coefficient variation [%]	6	1	78	68	26	2	27	66	113	0	28	15	0	9

Tissu 1 Moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	36442	28634	63287	57290	43263	31164	40958	47690	118255	15175	42181	39831	47193	41880
Ecart-type intensités	350	24802	11751	14768	5935	26705	2692	4622	31800	26283	3264	1853	16408	5638
Coefficient variation [%]	1	87	19	26	14	86	7	10	27	0	8	5	35	13

Tableau 3: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 2 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice CHCA 15mg/ml dans 30%ACN / 70%H₂O / 0.1%TFA.

Tissu 2, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	0	41256	60865	77644	40068	40092	44980	43312	80816	0	45161	38339	46440	38150
Ecart-type intensités	0	8693	30505	78294	6697	881	0	9383	57161	0	12341	5155	398	6058
Coefficient variation [%]	0	21	50	101	17	2	0	22	71	0	27	13	1	16

Tissu 2, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	34259	41650	66752	79416	46392	37122	35700	42246	104816	0	40043	41741	46469	44493
Ecart-type intensités	373	13553	39622	58900	1623	3527	3598	15329	96918	0	12233	16976	29339	15653
Coefficient variation [%]	1	33	59	74	3	10	10	36	92	0	31	41	63	35

Tissu 2, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	39141	60254	58148	69592	44394	40935	38605	48641	67731	0	43110	38683	57096	43275
Ecart-type intensités	0	14930	29914	55842	4989	6011	1703	10832	46531	0	17237	6540	25967	9385
Coefficient variation [%]	0	25	51	80	11	15	4	22	69	0	40	17	45	22

Tissu 2, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	24467	47720	61922	75551	43618	39383	39762	44733	84454	0	42771	39588	50002	41973
Ecart-type intensités	21329	10857	4398	5236	3233	2003	4747	3426	18808	0	2576	1873	6144	3366
Coefficient variation [%]	87	23	7	7	7	5	12	8	22	0	6	5	12	8

Tableau 4: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 3 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice CHCA 15mg/ml dans 30%ACN / 70%H₂O / 0.1%TFA.

Tissu 3, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	34265	37845	57809	105282	55079	38666	40166	40475	89099	0	67005	43065	41446	40246
Ecart-type intensités	2361	17570	32896	86812	27037	9970	16642	7555	47938	0	30798	13008	8803	13082
Coefficient variation [%]	7	46	57	82	49	26	41	19	54	0	46	30	21	33

Tissu 3, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	36103	37453	45153	64167	40403	60703	50794	45552	50666	0	45660	38224	62732	34118
Ecart-type intensités	0	2298	14892	75355	3597	0	0	0	22613	0	6117	6237	7875	15637
Coefficient variation [%]	0	6	33	117	9	0	0	0	45	0	13	16	13	46

Tissu 3, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	36051	44559	65939	71094	44048	39205	38441	53301	126816	0	50377	38654	0	37418
Ecart-type intensités	1291	2350	45589	38804	12765	3494	3057	31233	118411	0	20176	6945	0	6013
Coefficient variation [%]	4	5	69	55	29	9	8	59	93	0	40	18	0	16

Tissu 3, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	35473	39952	56300	80181	46510	46191	43134	46443	88860	0	54347	39981	34726	37261
Ecart-type intensités	1046	3994	10475	22012	7642	12570	6690	6460	38075	0	11213	2679	31901	3067
Coefficient variation [%]	3	10	19	27	16	27	16	14	43	0	21	7	92	8

Tableau 5: Répétabilité : intensités moyennes des tissus 1,2 et 3 sur 9 acquisitions de 100 pixels pour la matrice CHCA 15mg/ml dans 30%ACN / 70%H₂O / 0.1%TFA.

Tissu 1, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	36442	28634	63287	57290	43263	31164	40958	47690	118255	15175	42181	39831	47193	41880
Ecart-type intensités	350	24802	11751	14768	5935	26705	2692	4622	31800	26283	3264	1853	16408	5638
Coefficient variation [%]	1	87	19	26	14	86	7	10	27	0	8	5	35	13

Tissu 2, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	24467	47720	61922	75551	43618	39383	39762	44733	84454	0	42771	39588	50002	41973
Ecart-type intensités	21329	10857	4398	5236	3233	2003	4747	3426	18808	0	2576	1873	6144	3366
Coefficient variation [%]	87	23	7	7	7	5	12	8	22	0	6	5	12	8

Tissu 3, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	35473	39952	56300	80181	46510	46191	43134	46443	88860	0	54347	39981	34726	37261
Ecart-type intensités	1046	3994	10475	22012	7642	12570	6690	6460	38075	0	11213	2679	31901	3067
Coefficient variation [%]	3	10	19	27	16	27	16	14	43	0	21	7	92	8

Tissu 1,2,3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	32127	38769	60503	71007	44464	38913	41284	46289	97190	5058	46433	39800	43974	40371
Ecart-type intensités	6652	9598	3703	12103	1781	7524	1710	1485	18375	8761	6860	199	8131	2694
Coefficient variation [%]	21	25	6	17	4	19	4	3	19	173	15	0	18	7

Résultats pour la **répétabilité** obtenus avec 10 couches de **CHCA 15mg/ml dans 50%ACN / 50%H₂O / 0.1%TFA** sprayées à couche 1 : 10ml/min, couche 2 : 20ml/min, couche 3 : 30ml/min et couche 4+ : 40ml/min.

Tableau 6: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 1 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice CHCA 15mg/ml dans 50%ACN / 50%H₂O / 0.1%TFA.

Tissu 1, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	43142	109128	170866	495665	626357	41153	633639	77071	694375	39382	391580	523594	199448	812268
Ecart-type intensités	7414	44629	74407	200651	261940	1219	258930	41237	335338	11	124689	207103	75484	376019
Coefficient variation [%]	17	41	44	40	42	3	41	54	48	0	32	40	38	46

Tissu 1, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	39630	141337	1026589	866053	893288	44669	805329	412949	3149460	0	334931	761995	228809	743910
Ecart-type intensités	2702	50070	315180	254204	288125	924	266780	135628	850717	0	95526	261110	65420	258109
Coefficient variation [%]	7	35	31	29	32	2	33	33	27	0	29	34	29	35

Tissu 1, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	48560	95063	157353	332120	457166	41270	420773	85356	745363	46770	488600	330716	202193	695903
Ecart-type intensités	14958	42524	255359	192958	277551	8890	235800	150812	1058877	0	147144	171969	69435	249027
Coefficient variation [%]	31	45	162	58	61	22	56	177	142	0	30	52	34	36

Tissu 1, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	43777	115176	451603	564613	658937	42364	619914	191792	1529733	28717	405037	538768	210150	750694
Ecart-type intensités	4499	23722	497999	273563	219879	1997	192645	191572	1402957	25143	77713	216040	16217	58478
Coefficient variation [%]	10	21	110	48	33	5	31	100	92	88	19	40	8	8

Tableau 7: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 2 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice CHCA 15mg/ml dans 50%ACN / 50%H₂O / 0.1%TFA.

Tissu 2, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	34377	94347	480560	855629	1126507	39463	630322	244666	2022006	0	302875	509157	180585	636149
Ecart-type intensités	6303	34435	257570	298585	394626	1310	262962	128871	927097	0	115643	195969	69860	302620
Coefficient variation [%]	18	36	54	35	35	3	42	53	46	0	38	38	39	48

Tissu 2, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	40592	127233	217829	566200	827412	48320	767446	102677	1014054	0	504690	632552	236764	1113575
Ecart-type intensités	12543	47602	114633	187858	234230	2687	252623	70825	535850	0	143093	161283	80811	337532
Coefficient variation [%]	31	37	53	33	28	6	33	69	53	0	28	25	34	30

Tissu 2, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	38390	145121	271787	863063	1211878	61482	1105393	103688	1216830	0	544033	864137	256987	1259715
Ecart-type intensités	5382	44353	141149	277061	365284	86	350429	60502	627401	0	166795	255840	88720	363936
Coefficient variation [%]	14	31	52	32	30	0	32	58	52	0	31	30	35	29

Tissu 2, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne	37786	122234	323392	761631	1055266	49755	834387	150344	1417630	0	450533	668615	224779	1003146
Ecart-type	3151	25754	138760	169289	201891	11079	244508	81687	533134	0	129380	180217	39586	326120
CV [%]	8	21	43	22	19	22	29	54	38	0	29	27	18	33

Tableau 8: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 3 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice CHCA 15mg/ml dans 50%ACN / 50%H₂O / 0.1%TFA.

Tissu 3, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	35271	124692	267787	585000	838319	44478	748153	118322	1139536	37200	463684	611439	246169	884198
Ecart-type intensités	9487	53095	174277	245250	350324	1683	304394	111163	783239	0	162661	227712	92908	353043
Coefficient variation [%]	27	43	65	42	42	4	41	94	69	0	35	37	38	40

Tissu 3, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	37838	162392	1901381	1229252	1118268	41867	904239	725613	4974578	0	346618	897193	253541	728387
Ecart-type intensités	3077	60958	510249	351176	334048	1035	257299	210906	1177313	0	99194	284585	101132	198624
Coefficient variation [%]	8	38	27	29	30	2	28	29	24	0	29	32	40	27

Tissu 3, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	37643	110110	322822	567728	721641	42413	593388	135098	1126026	40799	360348	481180	193227	731513
Ecart-type intensités	6231	44822	388654	251847	284118	52	226761	172830	1181797	0	104781	164881	60928	251429
Coefficient variation [%]	17	41	120	44	39	0	38	128	105	0	29	34	32	34

Tissu 3, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne	36917	132398	830663	793993	892743	42919	748593	326344	2413380	26000	390217	663271	230979	781366
Ecart-type	1429	26979	927677	377044	203837	1377	155426	345879	2218073	22588	63994	212795	32901	89069
CV [%]	4	20	112	47	23	3	21	106	92	87	16	32	14	11

Tableau 9: Répétabilité : intensités moyennes des tissus 1,2 et 3 sur 9 acquisitions de 100 pixels pour la matrice CHCA 15mg/ml dans 50%ACN / 50%H₂O / 0.1%TFA.

Tissu 1, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	43777	115176	451603	564613	658937	42364	619914	191792	1529733	28717	405037	538768	210150	750694
Ecart-type intensités	4499	23722	497999	273563	219879	1997	192645	191572	1402957	25143	77713	216040	16217	58478
Coefficient variation [%]	10	21	110	48	33	5	31	100	92	88	19	40	8	8

Tissu 2, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	37786	122234	323392	761631	1055266	49755	834387	150344	1417630	0	450533	668615	224779	1003146
Ecart-type intensités	3151	25754	138760	169289	201891	11079	244508	81687	533134	0	129380	180217	39586	326120
Coefficient variation [%]	8	21	43	22	19	22	29	54	38	0	29	27	18	33

Tissu 3, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	36917	132398	830663	793993	892743	42919	748593	326344	2413380	26000	390217	663271	230979	781366
Ecart-type intensités	1429	26979	927677	377044	203837	1377	155426	345879	2218073	22588	63994	212795	32901	89069
Coefficient variation [%]	4	20	112	47	23	3	21	106	92	87	16	32	14	11

Tissu 1, 2, 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	39494	123269	535219	706746	868982	45013	734298	222827	1786914	18239	415262	623551	221969	845069
Ecart-type intensités	3735	8658	263770	124150	199230	4116	107949	92013	545423	15854	31431	73473	10695	137756
Coefficient variation [%]	9	7	49	18	23	9	15	41	31	87	8	12	5	16

Résultats pour la **répétabilité** obtenus avec 10 couches de **CHCA 15mg/ml dans 70%ACN / 30%H₂O / 0.1%TFA** sprayées à couche 1 : 10ml/min, couche 2 : 20ml/min, couche 3 : 30ml/min et couche 4+ : 40ml/min.

Tableau 10: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 1 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice CHCA 15mg/ml dans 70%ACN / 30%H₂O / 0.1%TFA.

Tissu 1, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	32017	48436	182896	153113	72255	45178	45022	78249	512231	0	45440	47349	43726	42575
Ecart-type intensités	2714	3413	100177	63209	29043	1581	13245	39336	220484	0	12921	17997	12082	12674
Coefficient variation [%]	8	7	55	41	40	4	29	50	43	0	28	38	28	30

Tissu 1, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	35552	44457	158349	150187	73108	39396	46211	69207	433117	0	39523	43863	37793	39059
Ecart-type intensités	792	3278	69660	55704	33535	3236	7066	28592	165587	0	9920	13529	5543	11286
Coefficient variation [%]	2	7	44	37	46	8	15	41	38	0	25	31	15	29

Tissu 1, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	41415	42660	281472	187861	117748	38178	75594	124288	800490	37202	54783	84714	55339	75719
Ecart-type intensités	645	11999	107621	66185	45343	2127	49819	55823	289170	964	23264	43375	24361	35479
Coefficient variation [%]	2	28	38	35	39	6	66	45	36	3	42	51	44	47

Tissu 1, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	36328	45184	207572	163720	87704	40917	55609	90581	581946	12401	46582	58642	45619	52451
Ecart-type intensités	4747	2956	65165	20958	26023	3740	17318	29539	193354	21479	7694	22646	8925	20227
Coefficient variation [%]	13	7	31	13	30	9	31	33	33	173	17	39	20	39

Tableau 11: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 2 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice CHCA 15mg/ml dans 70%ACN / 30%H₂O / 0.1%TFA.

Tissu 2, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	38110	41928	244600	233504	132488	42195	57986	108804	683015	0	49931	55714	43100	62998
Ecart-type intensités	1564	4783	105143	80295	54336	1978	32182	47058	231165	0	17082	23879	10881	27830
Coefficient variation [%]	4	11	43	34	41	5	56	43	34	0	34	43	25	44

Tissu 2, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	39207	44241	204990	219242	122255	45276	49964	91880	549023	0	46763	44641	46933	57447
Ecart-type intensités	2569	4056	87437	80145	46998	2185	18404	37547	169266	0	12484	12776	6774	23445
Coefficient variation [%]	7	9	43	37	38	5	37	41	31	0	27	29	14	41

Tissu 2, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	55046	67809	216223	782553	219432	38751	42769	72636	423920	0	41195	74884	104295	121955
Ecart-type intensités	69271	89231	225930	2143490	540342	2548	18994	39775	142327	0	10229	101126	211415	269581
Coefficient variation [%]	126	132	104	274	246	7	44	55	34	0	25	135	203	221

Tissu 2, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	44121	51326	221938	411766	158058	42074	50240	91107	551986	0	45963	58413	64776	80800
Ecart-type intensités	9477	14321	20414	321190	53397	3264	7612	18096	129573	0	4423	15301	34278	35749
Coefficient variation [%]	21	28	9	78	34	8	15	20	23	0	10	26	53	44

Tableau 12: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 3 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice CHCA 15mg/ml dans 70%ACN / 30%H₂O / 0.1%TFA.

Tissu 3, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	35306	42434	176108	168435	100198	38229	42466	72595	472045	0	44813	43984	41243	50606
Ecart-type intensités	3066	844	81291	69041	46970	1067	14400	34835	179782	0	9670	14477	8014	16765
Coefficient variation [%]	9	2	46	41	47	3	34	48	38	0	22	33	19	33

Tissu 3, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	34951	46556	194415	158821	100213	35580	50780	81622	511511	0	41068	51577	39830	53704
Ecart-type intensités	1264	1578	93122	55510	46857	584	14675	38691	170814	0	13511	20468	9188	20099
Coefficient variation [%]	4	3	48	35	47	2	29	47	33	0	33	40	23	37

Tissu 3, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	33239	38563	191224	195992	128393	44533	56212	86382	557607	0	44438	57134	42350	64535
Ecart-type intensités	3139	5137	76878	81338	54721	1986	32124	37414	182002	0	13522	28194	10875	30767
Coefficient variation [%]	9	13	40	42	43	4	57	43	33	0	30	49	26	48

Tissu 3, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	34499	42518	187249	174416	109601	39447	49819	80200	513721	0	43440	50898	41141	56282
Ecart-type intensités	1105	3997	9779	19294	16274	4599	6923	7003	42824	0	2062	6601	1263	7314
Coefficient variation [%]	3	9	5	11	15	12	14	9	8	0	5	13	3	13

Tableau 13: Répétabilité : intensités moyennes des tissus 1,2 et 3 sur 9 acquisitions de 100 pixels pour la matrice CHCA 15mg/ml dans 70%ACN / 30%H₂O / 0.1%TFA.

Tissu 1, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	36328	45184	207572	163720	87704	40917	55609	90581	581946	12401	46582	58642	45619	52451
Ecart-type intensités	4747	2956	65165	20958	26023	3740	17318	29539	193354	21479	7694	22646	8925	20227
Coefficient variation [%]	13	7	31	13	30	9	31	33	33	173	17	39	20	39

Tissu 2, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	44121	51326	221938	411766	158058	42074	50240	91107	551986	0	45963	58413	64776	80800
Ecart-type intensités	9477	14321	20414	321190	53397	3264	7612	18096	129573	0	4423	15301	34278	35749
Coefficient variation [%]	21	28	9	78	34	8	15	20	23	0	10	26	53	44

Tissu 3, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	34499	42518	187249	174416	109601	39447	49819	80200	513721	0	43440	50898	41141	56282
Ecart-type intensités	1105	3997	9779	19294	16274	4599	6923	7003	42824	0	2062	6601	1263	7314
Coefficient variation [%]	3	9	5	11	15	12	14	9	8	0	5	13	3	13

Tissu 1,2,3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	38316	46343	205586	249968	118454	40813	51889	87296	549218	4134	45328	55984	50512	63178
Ecart-type intensités	5110	4517	17429	140224	36003	1316	3228	6151	34197	7160	1665	4406	12554	15381
Coefficient variation [%]	13	10	8	56	30	3	6	7	6	173	4	8	25	24

Résultats pour la **répétabilité** obtenus avec 15 couches de **DHB 30mg/ml dans 30%MeOH / 70%H₂O / 0.1%TFA** sprayées à couche 1 : 10ml/min, couche 2 : 20ml/min, couche 3 : 30ml/min et couche 4+ : 40ml/min.

Tableau 14: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 1 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice DHB 30mg/ml dans 30%MeOH / 70%H₂O / 0.1%TFA.

Tissu 1, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	59992	73219	699534	234544	154840	220488	552021	584480	600209	33621	46069	1247659	147513	2254203
Ecart-type intensités	28059	37558	1365397	375358	218609	69033	866546	1139218	1334485	3901	24991	2406730	130159	1139466
Coefficient variation [%]	47	51	195	160	141	31	157	195	222	12	54	193	88	51

Tissu 1, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	48983	119419	3115120	456915	613130	220909	1539185	2497533	2174157	38971	69071	2412554	307209	2594799
Ecart-type intensités	24274	100643	4658196	617885	898407	82448	2198999	3829682	3310891	9354	73892	2981047	356624	1903262
Coefficient variation [%]	50	84	150	135	147	37	143	153	152	24	107	124	116	73

Tissu 1, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	45876	94997	1399906	305304	323517	235663	898659	1230910	1092657	44935	56441	1511722	202063	2283911
Ecart-type intensités	15137	71371	2628198	615186	622874	81236	1653846	2652023	2489767	651	48378	2628409	252582	1130313
Coefficient variation [%]	33	75	188	201	193	34	184	215	228	1	86	174	125	49

Tissu 1, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	51617	95878	1738187	332254	363829	225687	996622	1437641	1289008	39176	57194	1723978	218928	2377638
Ecart-type intensités	7417	23113	1242815	113609	231789	8642	500820	973137	805136	5660	11519	610766	81173	188653
Coefficient variation [%]	14	24	72	34	64	4	50	68	62	14	20	35	37	8

Tableau 15: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 2 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice DHB 30mg/ml dans 30% MeOH/ 70%H₂O / 0.1%TFA.

Tissu 2, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	65784	65983	365134	184095	119545	230761	324881	298981	288936	44250	45495	666310	136709	1833717
Ecart-type intensités	28261	28460	224376	96609	43941	71280	127942	162361	96197	5277	10476	448441	57573	461865
Coefficient variation [%]	43	43	61	52	37	31	39	54	33	12	23	67	42	25

Tissu 2, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	67306	113016	1187109	265120	210831	198377	675497	1061467	958534	39757	57036	1275325	233670	2121242
Ecart-type intensités	29970	67402	1922167	319987	277060	71762	900024	1849454	1556052	4130	43839	1647378	184601	764347
Coefficient variation [%]	45	60	162	121	131	36	133	174	162	10	77	129	79	36

Tissu 2, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	60100	94759	1290286	274479	231655	198801	814212	1243639	983987	45954	50163	1507611	207258	2314707
Ecart-type intensités	35654	52025	2106056	407270	310566	60195	1346629	2215205	1791479	4822	30691	2251468	169983	1045365
Coefficient variation [%]	59	55	163	148	134	30	165	178	182	10	61	149	82	45

Tissu 2, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	64397	91253	947510	241231	187344	209313	604863	868029	743819	43320	50898	1149749	192546	2089889
Ecart-type intensités	3798	23712	506984	49702	59631	18576	252196	501157	394146	3201	5806	434481	50127	242023
Coefficient variation [%]	6	26	54	21	32	9	42	58	53	7	11	38	26	12

Tableau 16: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 3 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice DHB 30mg/ml dans 30%MeOH / 70%H₂O / 0.1%TFA.

Tissu 3, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	49473	94326	416824	140119	114062	198709	298318	395425	372914	42977	44283	572702	185561	1631939
Ecart-type intensités	17463	33144	168096	50780	40990	64742	94930	123525	83178	1626	11094	318259	58374	464158
Coefficient variation [%]	35	35	40	36	36	33	32	31	22	4	25	56	31	28

Tissu 3, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	53273	102845	711942	201090	158351	189954	400602	677186	552079	56646	51374	886759	204561	1763303
Ecart-type intensités	19470	49726	609702	244508	117940	53838	292507	664216	453264	729	24298	1203763	84523	540957
Coefficient variation [%]	37	48	86	122	74	28	73	98	82	1	47	136	41	31

Tissu 3, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	69034	93176	447785	191690	125525	234515	346913	323174	288402	42948	43660	765248	197609	2060233
Ecart-type intensités	30142	36551	395901	125055	69966	66248	238607	277558	156257	3948	7402	871963	65662	542420
Coefficient variation [%]	44	39	88	65	56	28	69	86	54	9	17	114	33	26

Tissu 3, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	57260	96782	525517	177633	132646	207726	348611	465262	404465	47524	46439	741570	195910	1818492
Ecart-type intensités	10372	5282	162189	32826	22987	23609	51163	187053	134640	7900	4285	158362	9613	219416
Coefficient variation [%]	18	5	31	18	17	11	15	40	33	17	9	21	5	12

Tableau 17: Répétabilité: intensités moyennes des tissus 1,2 et 3 sur 9 acquisitions de 100 pixels pour la matrice DHB 30mg/ml dans 30% MeOH / 70%H₂O / 0.1%TFA.

Tissu 1, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	51617	95878	1738187	332254	363829	225687	996622	1437641	1289008	39176	57194	1723978	218928	2377638
Ecart-type intensités	7417	23113	1242815	113609	231789	8642	500820	973137	805136	5660	11519	610766	81173	188653
Coefficient variation [%]	14	24	72	34	64	4	50	68	62	14	20	35	37	8

Tissu 2, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	64397	91253	947510	241231	187344	209313	604863	868029	743819	43320	50898	1149749	192546	2089889
Ecart-type intensités	3798	23712	506984	49702	59631	18576	252196	501157	394146	3201	5806	434481	50127	242023
Coefficient variation [%]	6	26	54	21	32	9	42	58	53	7	11	38	26	12

Tissu 3, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	57260	96782	525517	177633	132646	207726	348611	465262	404465	47524	46439	741570	195910	1818492
Ecart-type intensités	10372	5282	162189	32826	22987	23609	51163	187053	134640	7900	4285	158362	9613	219416
Coefficient variation [%]	18	5	31	18	17	11	15	40	33	17	9	21	5	12

Tissu 1,2,3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	57758	94638	1070404	250373	227940	214242	650032	923644	812431	43340	51510	1205099	202461	2095339
Ecart-type intensités	6404	2966	615605	77715	120820	9943	326358	488569	446245	4174	5403	493538	14360	279613
Coefficient variation [%]	11	3	58	31	53	5	50	53	55	10	10	41	7	13

Résultats pour la **répétabilité** obtenus avec 15 couches de **DHB 30mg/ml dans 50% MeOH / 50%H₂O / 0.1%TFA** sprayées à couche 1 : 10ml/min, couche 2 : 20ml/min, couche 3 : 30ml/min et couche 4+ : 40ml/min.

Tableau 18: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 1 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice DHB 30mg/ml dans 50%MeOH / 50%H₂O / 0.1%TFA.

Tissu 1, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	67288	642573	6959051	1326276	1223240	137626	2253980	7908710	6154356	47543	568739	4054410	2637127	5728437
Ecart-type intensités	46290	404902	3811753	645591	520055	70223	1589010	11669715	2836656	10987	363977	2388599	1687264	6460060
Coefficient variation [%]	69	63	55	49	43	51	70	148	46	23	64	59	64	113

Tissu 1, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	56534	245435	10564913	1653438	1276345	172397	3317398	9913248	5281743	39644	251952	5832099	730198	10130917
Ecart-type intensités	29837	252418	4773273	726421	453618	67887	1537773	4886926	2221016	3762	128763	2171124	670239	5350974
Coefficient variation [%]	53	103	45	44	36	39	46	49	42	9	51	37	92	53

Tissu 1, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	63626	341599	9749579	2024195	1589062	183099	4490300	10472062	7228599	41987	373328	6581694	1244070	12207388
Ecart-type intensités	30755	288573	3559108	823019	519474	66097	2073449	6472060	2791477	9026	331728	2513987	1382254	6960111
Coefficient variation [%]	48	84	37	41	33	36	46	62	39	21	89	38	111	57

Tissu 1, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	62483	409869	9091181	1667970	1362882	164374	3353893	9431340	6221566	43058	398006	5489401	1537132	9355581
Ecart-type intensités	5467	207184	1890946	349186	197669	23774	1118607	1347913	975167	4057	159829	1298026	986665	3308332
Coefficient variation [%]	9	51	21	21	15	14	33	14	16	9	40	24	64	35

Tableau 19: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 2 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice DHB 30mg/ml dans 50%MeOH / 50%H₂O / 0.1%TFA.

Tissu 2, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	58150	232873	10707508	1883508	1126119	150047	2309624	8858724	5270032	43401	281120	4204933	712157	4974566
Ecart-type intensités	25997	88691	3923796	1004317	383206	43096	834460	3929237	1695575	7551	101939	1231206	320749	2009681
Coefficient variation [%]	45	38	37	53	34	29	36	44	32	17	36	29	45	40

Tissu 2, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	63523	251748	9891283	2074300	1232903	149728	2409457	8732688	5379999	40342	303170	4341348	766692	4999015
Ecart-type intensités	37839	132091	3409845	1226577	425098	54451	781735	4226080	1734277	7840	118902	1230116	445100	1955664
Coefficient variation [%]	60	52	34	59	34	36	32	48	32	19	39	28	58	39

Tissu 2, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	53267	198836	9064548	1954746	1178241	163180	2321315	8974360	4490675	41564	234122	4232217	542179	6565042
Ecart-type intensités	25385	80535	3548186	930859	393620	57293	778816	5089001	1343722	6381	92656	1180797	187997	3270519
Coefficient variation [%]	48	41	39	48	33	35	34	57	30	15	40	28	35	50

Tissu 2, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	58313	227819	9887780	1970851	1179088	154318	2346799	8855257	5046902	41769	272804	4259499	673676	5512874
Ecart-type intensités	5130	26816	821486	96410	53397	7676	54578	120873	484835	1540	35267	72184	117099	911286
Coefficient variation [%]	9	12	8	5	5	5	2	1	10	4	13	2	17	17

Tableau 20: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 3 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice DHB 30mg/ml dans 50%MeOH / 50%H₂O / 0.1%TFA.

Tissu 3, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	72277	294249	15163405	1473525	1323885	99670	4381613	12683527	8755478	37336	302275	6543470	1227194	5658749
Ecart-type intensités	47125	261946	7435548	931092	749970	59090	2610773	7663594	4811136	1093	240677	3368513	1165331	4128478
Coefficient variation [%]	65	89	49	63	57	59	60	60	55	3	80	51	95	73

Tissu 3, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	74941	334969	14343876	1877571	1347308	92784	2627147	14610975	6440173	39471	360341	4591038	1348013	6477756
Ecart-type intensités	38089	241924	5437949	1037191	533640	46651	1333920	8406688	2817462	8259	242319	1790688	1719239	3816598
Coefficient variation [%]	51	72	38	55	40	50	51	58	44	21	67	39	128	59

Tissu 3, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	66399	237121	15325821	1543705	1212779	103053	3584988	13552486	7108022	38677	295632	5664144	895143	5196051
Ecart-type intensités	30767	130727	6435986	846087	568680	46996	1840139	7533403	3610320	4311	161203	2303169	533963	2381681
Coefficient variation [%]	46	55	42	55	47	46	51	56	51	11	55	41	60	46

Tissu 3, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	71206	288780	14944367	1631600	1294657	98502	3531249	13615663	7434558	38495	319416	5599551	1156783	5777519
Ecart-type intensités	4371	49153	526343	215888	71869	5233	878467	965276	1191691	1079	35597	977817	234502	649054
Coefficient variation [%]	6	17	4	13	6	5	25	7	16	3	11	17	20	11

Tableau 21: Répétabilité : intensités moyennes des tissus 1,2 et 3 sur 9 acquisitions de 100 pixels pour la matrice DHB 30mg/ml dans 50%MeOH / 50%H₂O / 0.1%TFA.

Tissu 1, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	62483	409869	9091181	1667970	1362882	164374	3353893	9431340	6221566	43058	398006	5489401	1537132	9355581
Ecart-type intensités	5467	207184	1890946	349186	197669	23774	1118607	1347913	975167	4057	159829	1298026	986665	3308332
Coefficient variation [%]	9	51	21	21	15	14	33	14	16	9	40	24	64	35

Tissu 2, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	58313	227819	9887780	1970851	1179088	154318	2346799	8855257	5046902	41769	272804	4259499	673676	5512874
Ecart-type intensités	5130	26816	821486	96410	53397	7676	54578	120873	484835	1540	35267	72184	117099	911286
Coefficient variation [%]	9	12	8	5	5	5	2	1	10	4	13	2	17	17

Tissu 3, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	71206	288780	14944367	1631600	1294657	98502	3531249	13615663	7434558	38495	319416	5599551	1156783	5777519
Ecart-type intensités	4371	49153	526343	215888	71869	5233	878467	965276	1191691	1079	35597	977817	234502	649054
Coefficient variation [%]	6	17	4	13	6	5	25	7	16	3	11	17	20	11

Tissu 1,2,3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	64001	308823	11307776	1756807	1278876	139065	3077314	10634087	6234342	41107	330075	5116150	1122530	6881991
Ecart-type intensités	6579	92665	3174467	186258	92908	35486	638829	2598137	1193879	2353	63278	743923	432746	2146274
Coefficient variation [%]	10	30	28	11	7	26	21	24	19	6	19	15	39	31

Résultats pour la **répétabilité** obtenus avec 15 couches de **DHB 30mg/ml dans 70% MeOH / 30%H₂O / 0.1%TFA** sprayées à couche 1 : 10ml/min, couche 2 : 20ml/min, couche 3 : 30ml/min et couche 4+ : 40ml/min.

Tableau 22: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 1 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice DHB 30mg/ml dans 70%MeOH / 30%H₂O / 0.1%TFA.

Tissu 1, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	99673	675402	8339196	995137	939995	148218	1628356	3894260	5310343	41088	477622	3199792	1949843	2891629
Ecart-type intensités	47486	310648	2918406	527238	432001	52328	1113090	3569269	1782196	9826	212851	1732296	824752	2290121
Coefficient variation [%]	48	46	35	53	46	35	68	92	34	24	45	54	42	79

Tissu 1, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	91117	408872	8111325	1140759	1160049	164053	2099753	4719463	5782015	45836	371011	4028342	1273119	3580928
Ecart-type intensités	42290	178707	2443265	519647	412413	60519	1135577	2636938	1684944	11956	114314	1821929	557247	2116333
Coefficient variation [%]	46	44	30	46	36	37	54	56	29	26	31	45	44	59

Tissu 1, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	82517	360838	5441999	734202	898197	106216	1433855	2885568	6598149	44447	345120	2998036	1254690	1752525
Ecart-type intensités	41255	168140	1708913	397552	440965	48926	873015	1486038	3095374	8415	152814	1270362	621078	769348
Coefficient variation [%]	50	47	31	54	49	46	61	51	47	19	44	42	50	44

Tissu 1, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	91102	481704	7297507	956699	999414	139496	1720655	3833097	5896836	43790	397918	3408723	1492551	2741694
Ecart-type intensités	8578	169458	1610951	205986	140675	29889	342410	918476	651536	2441	70229	546005	396134	923377
Coefficient variation [%]	9	35	22	22	14	21	20	24	11	6	18	16	27	34

Tableau 23: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 2 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice DHB 30mg/ml dans 70%MeOH / 30%H₂O / 0.1%TFA.

Tissu 2, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	60482	296355	5054250	455823	594635	59723	767598	2263950	5730789	42249	286885	2170618	1246571	958954
Ecart-type intensités	28373	141332	1195744	143475	196083	20693	302982	978482	1785820	7196	131268	636353	642271	384476
Coefficient variation [%]	47	48	24	31	33	35	39	43	31	17	46	29	52	40

Tissu 2, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	73927	307809	5494213	593522	756518	67002	1096824	2864515	6951574	39245	286997	2718619	1199314	1221546
Ecart-type intensités	41865	150596	1642563	302432	383643	23526	560587	1408302	3126369	9789	131188	1026243	580269	471204
Coefficient variation [%]	57	49	30	51	51	35	51	49	45	25	46	38	48	39

Tissu 2, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	74224	233639	3981330	483194	633937	73697	1008008	2323974	4627311	36041	233351	2226678	788256	1315587
Ecart-type intensités	30091	110714	1362885	218140	309621	31716	534256	943385	2454339	4791	90990	866308	453810	485022
Coefficient variation [%]	41	47	34	45	49	43	53	41	53	13	39	39	58	37

Tissu 2, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	69544	279268	4843264	510846	661697	66807	957477	2484146	5769891	39178	269078	2371972	1078047	1165362
Ecart-type intensités	7850	39928	778197	72895	84436	6989	170331	330773	1162625	3105	30940	301511	252076	184836
Coefficient variation [%]	11	14	16	14	13	10	18	13	20	8	11	13	23	16

Tableau 24: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 3 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice DHB 30mg/ml dans 70%MeOH / 30%H₂O / 0.1%TFA.

Tissu 3, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	58861	269624	5068114	481913	627058	63702	908906	2650867	5549291	41227	241283	2401363	1079677	1224915
Ecart-type intensités	25476	139019	1317673	207527	281005	29131	474839	1240415	2359505	10127	110180	937759	599324	535386
Coefficient variation [%]	43	52	26	43	45	46	52	47	43	25	46	39	56	44

Tissu 3, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	75319	334791	6902845	746983	959828	100490	1678515	3854926	6956452	47541	311862	3448663	1168809	2196898
Ecart-type intensités	34175	193171	2422850	350382	450475	47895	830295	1745628	3145733	12222	162552	1364343	718857	871694
Coefficient variation [%]	45	58	35	47	47	48	49	45	45	26	52	40	62	40

Tissu 3, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	89955	330936	6407094	996896	1163933	99222	1737621	3794900	8103619	49053	363472	3459604	1144740	1998905
Ecart-type intensités	42707	141475	2163437	479776	490309	44993	738527	1522666	3404817	16382	142216	1234401	461939	826369
Coefficient variation [%]	47	43	34	48	42	45	43	40	42	33	39	36	40	41

Tissu 3, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	74712	311784	6126018	741931	916940	87805	1441681	3433564	6869787	45940	305539	3103210	1131075	1806906
Ecart-type intensités	15556	36562	949111	257529	270995	20883	462342	678500	1279367	4151	61339	607842	46110	513649
Coefficient variation [%]	21	12	15	35	30	24	32	20	19	9	20	20	4	28

Tableau 25: Répétabilité : intensités moyennes des tissus 1,2 et 3 sur 9 acquisitions de 100 pixels pour la matrice DHB 30mg/ml dans 70%MeOH / 30%H₂O / 0.1%TFA.

Tissu 1, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	91102	481704	7297507	956699	999414	139496	1720655	3833097	5896836	43790	397918	3408723	1492551	2741694
Ecart-type intensités	8578	169458	1610951	205986	140675	29889	342410	918476	651536	2441	70229	546005	396134	923377
Coefficient variation [%]	9	35	22	22	14	21	20	24	11	6	18	16	27	34

Tissu 2, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	69544	279268	4843264	510846	661697	66807	957477	2484146	5769891	39178	269078	2371972	1078047	1165362
Ecart-type intensités	7850	39928	778197	72895	84436	6989	170331	330773	1162625	3105	30940	301511	252076	184836
Coefficient variation [%]	11	14	16	14	13	10	18	13	20	8	11	13	23	16

Tissu 3, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	74712	311784	6126018	741931	916940	87805	1441681	3433564	6869787	45940	305539	3103210	1131075	1806906
Ecart-type intensités	15556	36562	949111	257529	270995	20883	462342	678500	1279367	4151	61339	607842	46110	513649
Coefficient variation [%]	21	12	15	35	30	24	32	20	19	9	20	20	4	28

Tissu 1,2,3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	78453	357585	6088930	736492	859350	98036	1373271	3250269	6178838	42970	324178	2961302	1233891	1904654
Ecart-type intensités	11255	108713	1227541	222976	176070	37409	386161	692903	601737	3455	66412	532745	225570	792699
Coefficient variation [%]	14	30	20	30	20	38	28	21	10	8	20	18	18	42

Résultats pour la **répétabilité** obtenus avec 15 couches de **DHB 30mg/ml dans 50%MeOH / 30%H₂O / 0%TFA** sprayées à couche 1 : 10ml/min, couche 2 : 20ml/min, couche 3 : 30ml/min et couche 4+ : 40ml/min.

Tableau 26: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 1 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice DHB 30mg/ml dans 50%MeOH/ 50%H₂O / 0%TFA.

Tissu 1, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	82382	302540	11703842	1592408	1293168	119147	2364761	11515942	6003951	57985	260806	4146303	759886	7752225
Ecart-type intensités	41051	153021	4703160	756872	482893	45458	1063325	5818803	2481657	15563	104037	1424614	368751	3804198
Coefficient variation [%]	50	51	40	48	37	38	45	51	41	27	40	34	49	49

Tissu 1, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	79701	398462	11257809	1459182	1284528	107034	1882973	10176837	6514296	52047	351027	3432210	1316581	4705428
Ecart-type intensités	42389	206502	3636796	689067	479207	42923	996817	6770060	2162506	16082	205062	1461792	1232685	2831032
Coefficient variation [%]	53	52	32	47	37	40	53	67	33	31	58	43	94	60

Tissu 1, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	38752	58314	53945	130175	87202	45244	76189	78110	60297	43043	45703	48238	83537	56469
Ecart-type intensités	49318	337018	6274395	580960	766808	90901	2043684	6693810	4232848	15914	229090	2925133	1185497	5059075
Coefficient variation [%]	127	578	11631	446	879	201	2682	8570	7020	37	501	6064	1419	8959

Tissu 1, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	66945	253105	7671865	1060588	888299	90475	1441308	7256963	4192848	51025	219179	2542250	720001	4171374
Ecart-type intensités	24453	175380	6601081	808510	693784	39637	1206520	6253019	3587979	7523	156861	2189191	617489	3875574
Coefficient variation [%]	37	69	86	76	78	44	84	86	86	15	72	86	86	93

Tableau 27: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 2 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice DHB 30mg/ml dans 50%MeOH / 50%H₂O / 0%TFA.

Tissu 2, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	61133	444438	7173390	1138628	1223855	201500	1868690	7071043	5218074	60402	318354	3623313	1437248	6249499
Ecart-type intensités	26671	352010	3435884	563770	522608	70638	1289067	6014427	2038360	14125	225055	1883474	1487451	4565178
Coefficient variation [%]	44	79	48	50	43	35	69	85	39	23	71	52	103	73

Tissu 2, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	78513	471388	5089412	1368616	1366731	143262	1995400	6480312	5803795	63305	347799	3757276	1518854	5215851
Ecart-type intensités	39634	360495	3002444	726095	598605	61049	1132209	5790874	2659661	19374	276867	1559462	1906551	3961814
Coefficient variation [%]	50	76	59	53	44	43	57	89	46	31	80	42	126	76

Tissu 2, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	63493	455274	7090872	1404757	1251191	169226	1903685	6050856	5279316	59212	314290	3548051	1430630	5212589
Ecart-type intensités	25994	384779	4316245	921942	560170	62692	1304950	5518836	2148922	15197	225590	2002707	1580641	3900784
Coefficient variation [%]	41	85	61	66	45	37	69	91	41	26	72	56	110	75

Tissu 2, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	67713	457033	6451225	1304000	1280592	171329	1922592	6534070	5433728	60973	326814	3642880	1462244	5559313
Ecart-type intensités	9427	13561	1180086	144352	75840	29176	65437	512214	321947	2105	18287	105976	49137	597721
Coefficient variation [%]	14	3	18	11	6	17	3	8	6	3	6	3	3	11

Tableau 28: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 3 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice DHB 30mg/ml dans 50%MeOH / 50%H₂O / 0%TFA.

Tissu 3, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	62242	448864	5932586	2273085	1933861	274778	3082301	6675487	7236347	57487	366797	5298260	1237783	9733860
Ecart-type intensités	28376	330177	2981168	1033594	722525	99798	1372139	4444394	2729341	13214	240541	1893667	1068873	5832238
Coefficient variation [%]	46	74	50	45	37	36	45	67	38	23	66	36	86	60

Tissu 3, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	54856	584587	5145194	909686	911434	163441	1808838	7158974	4328465	64960	375119	3110847	1992915	6031568
Ecart-type intensités	35705	494106	3417007	620111	593545	69667	1611878	11666663	3213243	19814	388891	2301610	1947620	7758016
Coefficient variation [%]	65	85	66	68	65	43	89	163	74	31	104	74	98	129

Tissu 3, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	61866	572615	2507757	2716500	2503774	286373	3501417	3532583	8493528	60842	396835	5192283	1774232	5480169
Ecart-type intensités	27366	404581	1263329	930567	691500	93366	1425762	2431547	2854910	17845	356718	1696797	1970584	2942682
Coefficient variation [%]	44	71	50	34	28	33	41	69	34	29	90	33	111	54

Tissu 3, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	59655	535355	4528512	1966424	1783023	241531	2797519	5789015	6686113	61096	379584	4533797	1668310	7081866
Ecart-type intensités	4160	75142	1793763	941634	806815	67876	881494	1969023	2136353	3743	15509	1233449	388549	2313183
Coefficient variation [%]	7	14	40	48	45	28	32	34	32	6	4	27	23	33

Tableau 29: Répétabilité : intensités moyennes des tissus 1,2 et 3 sur 9 acquisitions de 100 pixels pour la matrice DHB 30mg/ml dans 50%MeOH / 50%H₂O / 0%TFA.

Tissu 1, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	66945	253105	7671865	1060588	888299	90475	1441308	7256963	4192848	51025	219179	2542250	720001	4171374
Ecart-type intensités	24453	175380	6601081	808510	693784	39637	1206520	6253019	3587979	7523	156861	2189191	617489	3875574
Coefficient variation [%]	37	69	86	76	78	44	84	86	86	15	72	86	86	93

Tissu 2, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	67713	457033	6451225	1304000	1280592	171329	1922592	6534070	5433728	60973	326814	3642880	1462244	5559313
Ecart-type intensités	9427	13561	1180086	144352	75840	29176	65437	512214	321947	2105	18287	105976	49137	597721
Coefficient variation [%]	14	3	18	11	6	17	3	8	6	3	6	3	3	11

Tissu 3, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	59655	535355	4528512	1966424	1783023	241531	2797519	5789015	6686113	61096	379584	4533797	1668310	7081866
Ecart-type intensités	4160	75142	1793763	941634	806815	67876	881494	1969023	2136353	3743	15509	1233449	388549	2313183
Coefficient variation [%]	7	14	40	48	45	28	32	34	32	6	4	27	23	33

Tissu 1,2,3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	64771	415165	6217201	1443671	1317305	167778	2053806	6526683	5437563	57698	308526	3572976	1283518	5604184
Ecart-type intensités	4447	145709	1584690	468791	448490	75590	687561	734002	1246637	5779	81751	997612	498778	1455765
Coefficient variation [%]	7	35	25	32	34	45	33	11	23	10	26	28	39	26

Résultats pour la **répétabilité** obtenus avec 15 couches de **DHB 30mg/ml** dans **50%MeOH / 50%H₂O / 0.1%TFA** sprayées à couche 1 : 10ml/min, couche 2 : 20ml/min, couche 3 : 30ml/min et couche 4+ : 40ml/min.

Tableau 30: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 1 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice DHB 30mg/ml dans 50%MeOH / 50%H₂O / 0.1%TFA.

Tissu 1, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	67288	642573	6959051	1326276	1223240	137626	2253980	7908710	6154356	47543	568739	4054410	2637127	5728437
Ecart-type intensités	46290	404902	3811753	645591	520055	70223	1589010	11669715	2836656	10987	363977	2388599	1687264	6460060
Coefficient variation [%]	69	63	55	49	43	51	70	148	46	23	64	59	64	113

Tissu 1, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	56534	245435	10564913	1653438	1276345	172397	3317398	9913248	5281743	39644	251952	5832099	730198	10130917
Ecart-type intensités	29837	252418	4773273	726421	453618	67887	1537773	4886926	2221016	3762	128763	2171124	670239	5350974
Coefficient variation [%]	53	103	45	44	36	39	46	49	42	9	51	37	92	53

Tissu 1, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	63626	341599	9749579	2024195	1589062	183099	4490300	10472062	7228599	41987	373328	6581694	1244070	12207388
Ecart-type intensités	30755	288573	3559108	823019	519474	66097	2073449	6472060	2791477	9026	331728	2513987	1382254	6960111
Coefficient variation [%]	48	84	37	41	33	36	46	62	39	21	89	38	111	57

Tissu 1, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	62483	409869	9091181	1667970	1362882	164374	3353893	9431340	6221566	43058	398006	5489401	1537132	9355581
Ecart-type intensités	5467	207184	1890946	349186	197669	23774	1118607	1347913	975167	4057	159829	1298026	986665	3308332
Coefficient variation [%]	9	51	21	21	15	14	33	14	16	9	40	24	64	35

Tableau 31: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 2 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice DHB 30mg/ml dans 50%MeOH / 50%H₂O / 0.1%TFA.

Tissu 2, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	58150	232873	10707508	1883508	1126119	150047	2309624	8858724	5270032	43401	281120	4204933	712157	4974566
Ecart-type intensités	25997	88691	3923796	1004317	383206	43096	834460	3929237	1695575	7551	101939	1231206	320749	2009681
Coefficient variation [%]	45	38	37	53	34	29	36	44	32	17	36	29	45	40

Tissu 2, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	63523	251748	9891283	2074300	1232903	149728	2409457	8732688	5379999	40342	303170	4341348	766692	4999015
Ecart-type intensités	37839	132091	3409845	1226577	425098	54451	781735	4226080	1734277	7840	118902	1230116	445100	1955664
Coefficient variation [%]	60	52	34	59	34	36	32	48	32	19	39	28	58	39

Tissu 2, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	53267	198836	9064548	1954746	1178241	163180	2321315	8974360	4490675	41564	234122	4232217	542179	6565042
Ecart-type intensités	25385	80535	3548186	930859	393620	57293	778816	5089001	1343722	6381	92656	1180797	187997	3270519
Coefficient variation [%]	48	41	39	48	33	35	34	57	30	15	40	28	35	50

Tissu 2, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	58313	227819	9887780	1970851	1179088	154318	2346799	8855257	5046902	41769	272804	4259499	673676	5512874
Ecart-type intensités	5130	26816	821486	96410	53397	7676	54578	120873	484835	1540	35267	72184	117099	911286
Coefficient variation [%]	9	12	8	5	5	5	2	1	10	4	13	2	17	17

Tableau 32: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 3 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice DHB 30mg/ml dans 50%MeOH / 50%H₂O / 0.1%TFA.

Tissu 3, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	72277	294249	15163405	1473525	1323885	99670	4381613	12683527	8755478	37336	302275	6543470	1227194	5658749
Ecart-type intensités	47125	261946	7435548	931092	749970	59090	2610773	7663594	4811136	1093	240677	3368513	1165331	4128478
Coefficient variation [%]	65	89	49	63	57	59	60	60	55	3	80	51	95	73

Tissu 3, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	74941	334969	14343876	1877571	1347308	92784	2627147	14610975	6440173	39471	360341	4591038	1348013	6477756
Ecart-type intensités	38089	241924	5437949	1037191	533640	46651	1333920	8406688	2817462	8259	242319	1790688	1719239	3816598
Coefficient variation [%]	51	72	38	55	40	50	51	58	44	21	67	39	128	59

Tissu 3, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	66399	237121	15325821	1543705	1212779	103053	3584988	13552486	7108022	38677	295632	5664144	895143	5196051
Ecart-type intensités	30767	130727	6435986	846087	568680	46996	1840139	7533403	3610320	4311	161203	2303169	533963	2381681
Coefficient variation [%]	46	55	42	55	47	46	51	56	51	11	55	41	60	46

Tissu 3, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	71206	288780	14944367	1631600	1294657	98502	3531249	13615663	7434558	38495	319416	5599551	1156783	5777519
Ecart-type intensités	4371	49153	526343	215888	71869	5233	878467	965276	1191691	1079	35597	977817	234502	649054
Coefficient variation [%]	6	17	4	13	6	5	25	7	16	3	11	17	20	11

Tableau 33: Répétabilité : intensités moyennes des tissus 1,2 et 3 sur 9 acquisitions de 100 pixels pour la matrice DHB 30mg/ml dans 50%MeOH / 50%H₂O / 0.1%TFA.

Tissu 1, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	62483	409869	9091181	1667970	1362882	164374	3353893	9431340	6221566	43058	398006	5489401	1537132	9355581
Ecart-type intensités	5467	207184	1890946	349186	197669	23774	1118607	1347913	975167	4057	159829	1298026	986665	3308332
Coefficient variation [%]	9	51	21	21	15	14	33	14	16	9	40	24	64	35

Tissu 2, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	58313	227819	9887780	1970851	1179088	154318	2346799	8855257	5046902	41769	272804	4259499	673676	5512874
Ecart-type intensités	5130	26816	821486	96410	53397	7676	54578	120873	484835	1540	35267	72184	117099	911286
Coefficient variation [%]	9	12	8	5	5	5	2	1	10	4	13	2	17	17

Tissu 3, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	71206	288780	14944367	1631600	1294657	98502	3531249	13615663	7434558	38495	319416	5599551	1156783	5777519
Ecart-type intensités	4371	49153	526343	215888	71869	5233	878467	965276	1191691	1079	35597	977817	234502	649054
Coefficient variation [%]	6	17	4	13	6	5	25	7	16	3	11	17	20	11

Tissu 1,2,3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	64001	308823	11307776	1756807	1278876	139065	3077314	10634087	6234342	41107	330075	5116150	1122530	6881991
Ecart-type intensités	6579	92665	3174467	186258	92908	35486	638829	2598137	1193879	2353	63278	743923	432746	2146274
Coefficient variation [%]	10	30	28	11	7	26	21	24	19	6	19	15	39	31

Résultats pour la **répétabilité** obtenus avec 15 couches de **DHB 30mg/ml dans 50%MeOH / 50%H₂O / 0.3%TFA** sprayées à couche 1 : 10ml/min, couche 2 : 20ml/min, couche 3 : 30ml/min et couche 4+ : 40ml/min.

Tableau 34: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 1 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice DHB 30mg/ml dans 50%MeOH/ 50%H₂O / 0.3%TFA.

Tissu 1, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	56744	324945	10431572	1252939	581004	123897	2664738	11930056	3634823	48856	255360	4131965	1272674	9270515
Ecart-type intensités	24234	290956	3969103	672241	240919	55700	1233158	8726829	1597903	9051	221617	1755078	2002054	5845689
Coefficient variation [%]	43	90	38	54	41	45	46	73	44	19	87	42	157	63

Tissu 1, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	83217	445051	6220784	2497036	1207766	125332	2378100	6170294	5517526	55933	349006	4073449	1242959	4347617
Ecart-type intensités	34194	198387	2202525	1103347	401421	45241	984326	3518662	1392460	14952	196836	1315732	958386	2271145
Coefficient variation [%]	41	45	35	44	33	36	41	57	25	27	56	32	77	52

Tissu 1, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	71737	343784	6291253	2208386	1048150	117085	2152995	5652116	4509792	52577	266673	3801851	804584	4152217
Ecart-type intensités	35278	158896	2594227	982150	375110	44500	725907	2947543	1579972	12169	132103	965717	597945	1612510
Coefficient variation [%]	49	46	41	44	36	38	34	52	35	23	50	25	74	39

Tissu 1, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	70566	371260	7647870	1986120	945640	122105	2398611	7917489	4554047	52455	290346	4002422	1106739	5923450
Ecart-type intensités	13275	64595	2411014	651150	325713	4406	256487	3484630	942131	3540	51115	176146	262095	2900290
Coefficient variation [%]	19	17	32	33	34	4	11	44	21	7	18	4	24	49

Tableau 35: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 2 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice DHB 30mg/ml dans 50%MeOH / 50%H₂O / 0.3%TFA.

Tissu 2, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	60881	295353	10272353	1758581	792604	156671	2125570	8458343	3846397	55476	284632	3837975	769418	5639866
Ecart-type intensités	24716	114375	3558299	891355	295991	61262	797969	4199064	1085645	12986	130891	1280428	483925	2577787
Coefficient variation [%]	41	39	35	51	37	39	38	50	28	23	46	33	63	46

Tissu 2, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	55859	237672	10335357	1426349	678194	123623	2345365	8524628	3797119	52991	216874	4053674	598684	5090303
Ecart-type intensités	20942	100608	3340118	664270	230000	47910	936836	3565803	1010693	10373	74209	1217122	294164	1861956
Coefficient variation [%]	37	42	32	47	34	39	40	42	27	20	34	30	49	37

Tissu 2, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	52660	310845	7687780	1617374	807901	160663	1985759	7243039	3799677	58592	289264	3279849	867340	5644667
Ecart-type intensités	25740	202630	2566587	996920	312154	55409	838816	4289143	1416016	16912	177408	998999	774735	3110237
Coefficient variation [%]	49	65	33	62	39	34	42	59	37	29	61	30	89	55

Tissu 2, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	56467	281290	9431830	1600768	759566	146986	2152231	8075337	3814398	55686	263590	3723833	745147	5458279
Ecart-type intensités	4144	38560	1510720	166737	70884	20331	181279	721552	27742	2806	40523	399340	135963	318685
Coefficient variation [%]	7	14	16	10	9	14	8	9	1	5	15	11	18	6

Tableau 36: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 3 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice DHB 30mg/ml dans 50%MeOH / 50%H₂O / 0.3%TFA.

Tissu 3, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	47762	272579	6908046	1536530	825097	205776	2310342	6575521	3394574	56057	250435	3949952	646938	7697708
Ecart-type intensités	12878	131383	3011655	901614	344825	73094	857419	4054534	1377273	11925	122333	1200823	382606	4172187
Coefficient variation [%]	27	48	44	59	42	36	37	62	41	21	49	30	59	54

Tissu 3, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	43270	251519	4565934	1980153	945446	195714	2954079	6268114	3449764	54854	194067	4641576	635184	7675117
Ecart-type intensités	10827	170110	2529396	1050224	365542	71753	1010256	3985625	1366142	13727	141766	1266999	707771	3615742
Coefficient variation [%]	25	68	55	53	39	37	34	64	40	25	73	27	111	47

Tissu 3, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	44910	224400	5829306	1884116	887882	200234	2292249	6973438	2738047	48234	160336	3634444	453959	8651673
Ecart-type intensités	5614	90719	2444558	900469	309743	77493	804074	4752160	940668	8882	66466	972432	168162	3922149
Coefficient variation [%]	12	40	42	48	35	39	35	68	34	18	41	27	37	45

Tissu 3, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	45314	249499	5767762	1800266	886142	200575	2518890	6605691	3194128	53048	201613	4075324	578694	8008166
Ecart-type intensités	2273	24153	1172268	233395	60193	5040	376993	353629	395941	4213	45521	515138	108183	557408
Coefficient variation [%]	5	10	20	13	7	3	15	5	12	8	23	13	19	7

Tableau 37: Répétabilité : intensités moyennes des tissus 1,2 et 3 sur 9 acquisitions de 100 pixels pour la matrice DHB 30mg/ml dans 50%MeOH / 50%H₂O / 0.3%TFA.

Tissu 1, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	70566	371260	7647870	1986120	945640	122105	2398611	7917489	4554047	52455	290346	4002422	1106739	5923450
Ecart-type intensités	13275	64595	2411014	651150	325713	4406	256487	3484630	942131	3540	51115	176146	262095	2900290
Coefficient variation [%]	19	17	32	33	34	4	11	44	21	7	18	4	24	49

Tissu 2, moyenne des 3 acquisitions

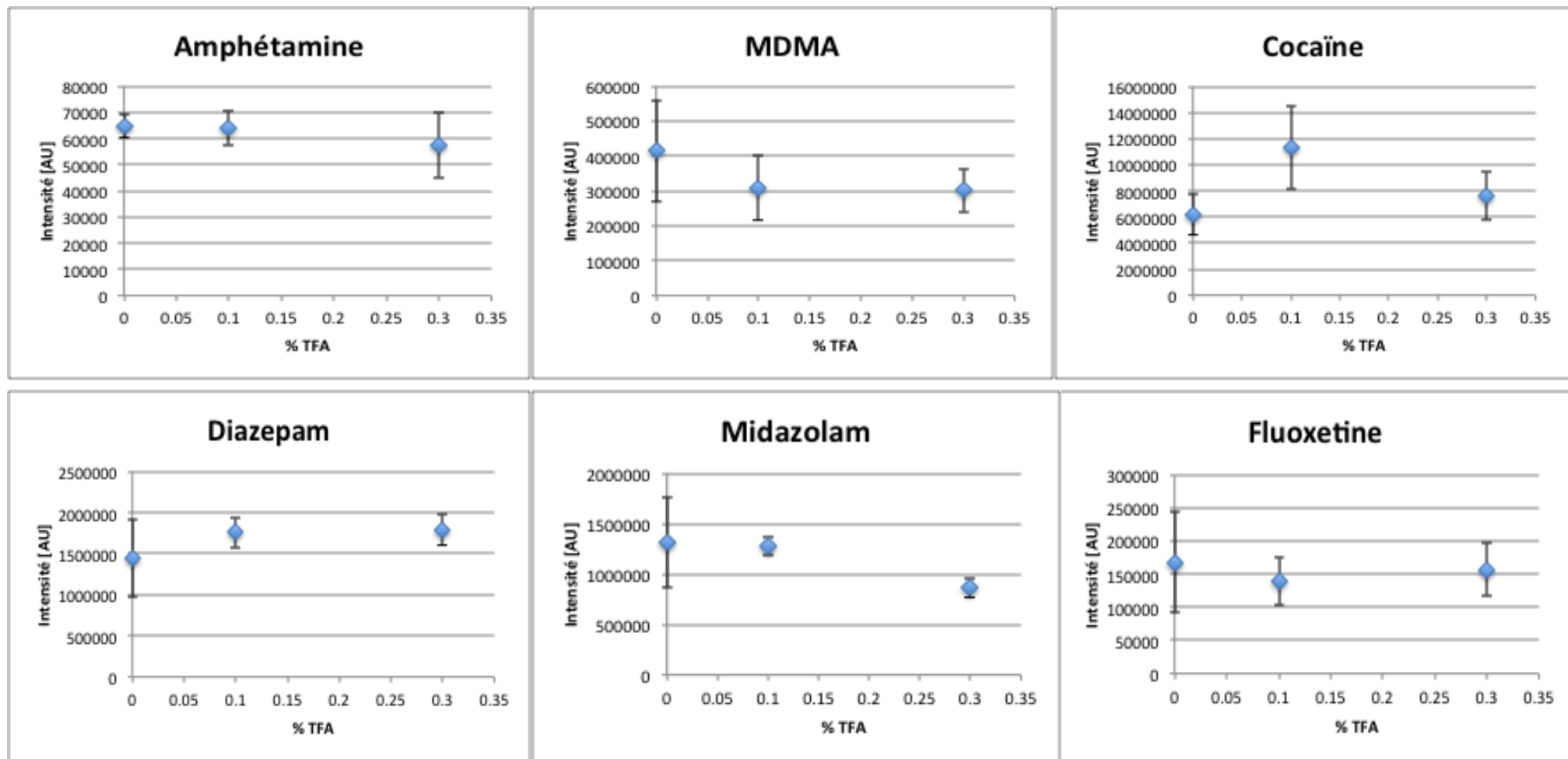
Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	56467	281290	9431830	1600768	759566	146986	2152231	8075337	3814398	55686	263590	3723833	745147	5458279
Ecart-type intensités	4144	38560	1510720	166737	70884	20331	181279	721552	27742	2806	40523	399340	135963	318685
Coefficient variation [%]	7	14	16	10	9	14	8	9	1	5	15	11	18	6

Tissu 3, moyenne des 3 acquisitions

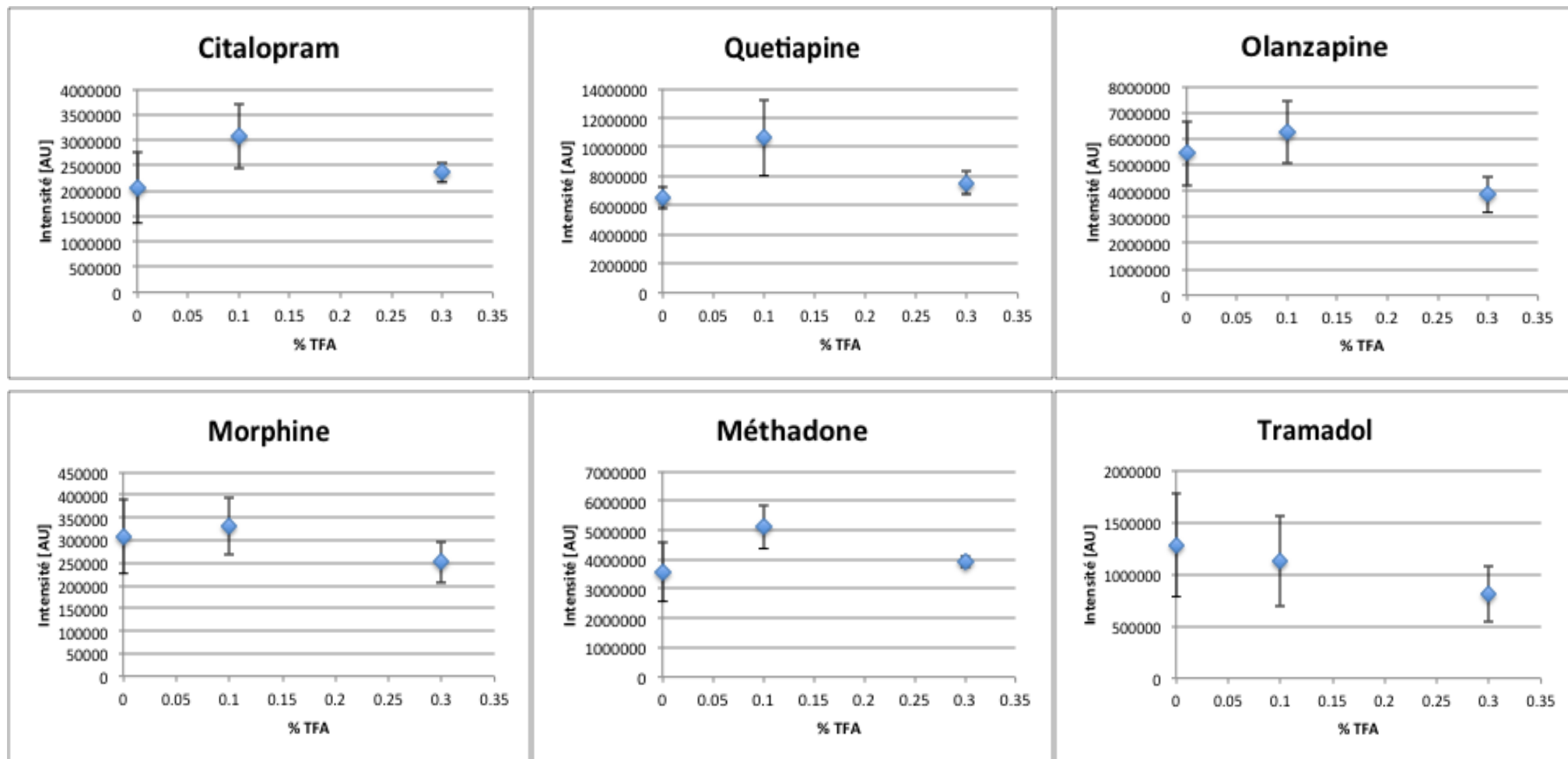
Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	45314	249499	5767762	1800266	886142	200575	2518890	6605691	3194128	53048	201613	4075324	578694	8008166
Ecart-type intensités	2273	24153	1172268	233395	60193	5040	376993	353629	395941	4213	45521	515138	108183	557408
Coefficient variation [%]	5	10	20	13	7	3	15	5	12	8	23	13	19	7

Tissu 1,2,3

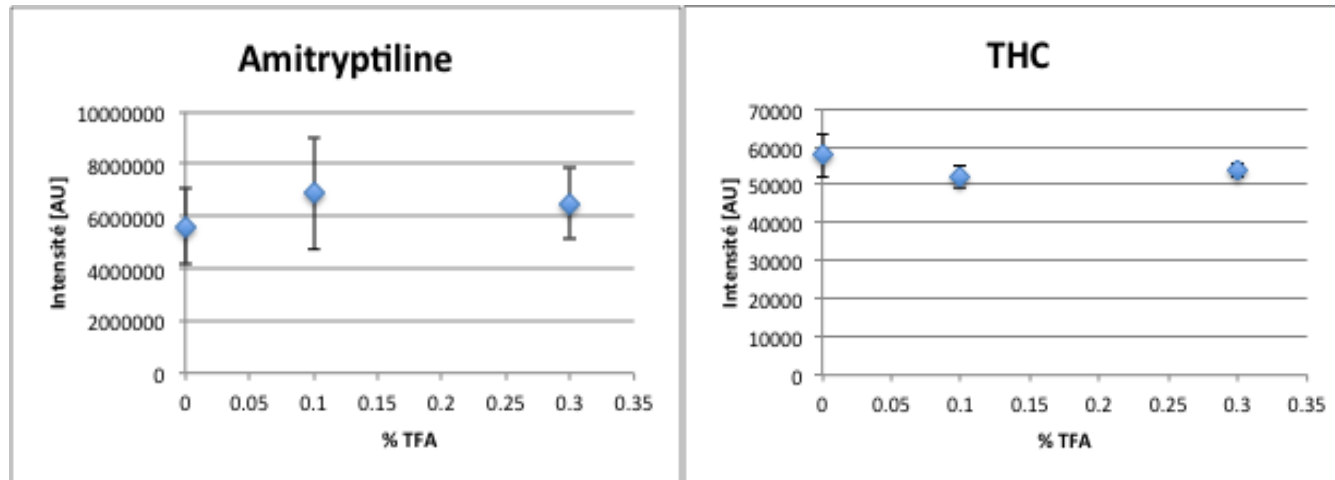
Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	57449	300683	7615821	1795718	863783	156555	2356577	7532839	3854191	53730	251850	3933859	810193	6463298
Ecart-type intensités	12655	63154	1832244	192716	95031	40101	186908	806803	680832	1720	45517	185505	269965	1357961
Coefficient variation [%]	22	21	24	11	11	26	8	11	18	3	18	5	33	21



Figures 2 : Effet de TFA sur l'intensité du signal pour chaque drogue



Figures 2 : Effet de TFA sur l'intensité du signal pour chaque drogue



Figures 2 : Effet de TFA sur l'intensité du signal pour chaque drogue

Résultats pour la **répétabilité** obtenus avec 15 couches de **DHB 30mg/ml dans 50%MeOH / 50%H₂O / 0.1%TFA** et avec lavage au **tampon d'acétate d'ammonium 0.1M à pH 3** sprayées à couche 1 : 10ml/min, couche 2 : 20ml/min, couche 3 : 30ml/min et couche 4+ : 40ml/min.

Tableau 38: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 1 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice DHB 30mg/ml dans 50%MeOH / 50%H₂O / 0.1%TFA avec lavage au tampon acétate d'ammonium 0.1M à pH 3.

Tissu 1, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	18860	50568	796878	404439	412794	133676	1183090	1156102	663299	23714	38643	1311974	132988	3233053
Ecart-type intensités	4159	12347	225005	56456	43140	16664	221675	283980	58147	4658	5290	203727	52936	541734
Coefficient variation [%]	22	24	28	14	10	12	19	25	9	20	14	16	40	17

Tissu 1, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	14341	47833	556910	374532	317085	121373	961479	1229791	667592	15733	44795	935730	172857	3166801
Ecart-type intensités	4249	30599	183590	120449	81116	40941	286342	400634	265126	7104	25369	258835	222123	836540
Coefficient variation [%]	30	64	33	32	26	34	30	33	40	45	57	28	129	26

Tissu 1, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	18045	124810	993892	625371	489066	88600	1099821	1995602	1111202	15150	117664	1273365	489484	4552452
Ecart-type intensités	7048	80904	279110	213926	152565	25496	520740	1027445	476905	4725	87855	503995	408669	2472854
Coefficient variation [%]	39	65	28	34	31	29	47	51	43	31	75	40	83	54

Tissu 1, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	17082	74404	782560	468114	406315	114550	1081463	1460498	814031	18199	67034	1173690	265110	3650769
Ecart-type intensités	2408	43675	218843	137007	86173	23300	111940	464876	257367	4785	43955	206981	195334	781583
Coefficient variation [%]	14	59	28	29	21	20	10	32	32	26	66	18	74	21

Tableau 39: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 2 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice DHB 30mg/ml dans 50%MeOH / 50%H₂O / 0.1%TFA avec lavage au tampon acétate d'ammonium 0.1M à pH 3.

Tissu 2, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	17804	138032	1677362	754772	676720	124672	1440298	3664648	1506363	15649	143318	1851227	464391	6103690
Ecart-type intensités	4413	61302	350170	192812	207061	31422	578320	1258932	422922	5874	74139	626698	235604	2908443
Coefficient variation [%]	25	44	21	26	31	25	40	34	28	38	52	34	51	48

Tissu 2, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	12452	85893	504949	779848	598270	169972	1215430	1098388	908162	19809	89294	1617742	238856	6768630
Ecart-type intensités	3241	31067	116298	144886	102943	25247	312307	277813	164419	7584	19236	268182	136392	1688718
Coefficient variation [%]	26	36	23	19	17	15	26	25	18	38	22	17	57	25

Tissu 2, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	12448	69337	860855	857617	588480	174037	1130789	1486245	856782	19692	68902	1657534	169803	4780204
Ecart-type intensités	3681	15229	253841	143482	90254	23933	270842	309679	191211	5134	12570	285852	51668	1265483
Coefficient variation [%]	30	22	29	17	15	14	24	21	22	26	18	17	30	26

Tissu 2, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	14235	97754	1014389	797412	621157	156227	1262172	2083094	1090436	18383	100505	1708834	291017	5884175
Ecart-type intensités	3091	35851	601097	53625	48368	27403	159961	1383327	361119	2369	38454	124910	154065	1012225
Coefficient variation [%]	22	37	59	7	8	18	13	66	33	13	38	7	53	17

Tableau 40: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 3 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice DHB 30mg/ml dans 50%MeOH / 50%H₂O / 0.1%TFA avec lavage au tampon acétate d'ammonium 0.1M à pH 3.

Tissu 3, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	27795	298602	2046813	792454	682630	76903	997382	3475245	2390354	30611	289894	1464413	1421168	2261884
Ecart-type intensités	9867	71526	590995	218670	216722	22484	449037	2767323	730593	13604	94297	523733	354959	1261518
Coefficient variation [%]	36	24	29	28	32	29	45	80	31	44	33	36	25	56

Tissu 3, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	20302	149274	1117922	548715	641122	139914	1821405	2804272	1460889	20281	135103	2286277	628940	6918060
Ecart-type intensités	4429	60079	393871	156571	177374	44217	663938	1113295	370153	5287	48462	721215	277120	2886508
Coefficient variation [%]	22	40	35	29	28	32	36	40	25	26	36	32	44	42

Tissu 3, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	36260	411326	3886916	849290	924114	63059	858977	2236384	3460765	35052	343731	1435894	2126441	1188588
Ecart-type intensités	20339	150930	1472154	353900	406313	20048	361032	912024	1541613	15438	183536	529374	1013320	536315
Coefficient variation [%]	56	37	38	42	44	32	42	41	45	44	53	37	48	45

Tissu 3, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	28119	286401	2350550	730153	749289	93292	1225921	2838634	2437336	28648	256243	1728861	1392183	3456177
Ecart-type intensités	7984	131451	1409264	159679	152819	40965	520326	620145	1000765	7579	108308	482947	749171	3045729
Coefficient variation [%]	28	46	60	22	20	44	42	22	41	26	42	28	54	88

Tableau 41: Répétabilité: intensités moyennes des tissus 1,2 et 3 sur 9 acquisitions de 100 pixels pour la matrice DHB 30mg/ml dans 50%MeOH/ 50%H₂O / 0.1%TFA avec lavage au tampon d'acétate d'ammonium 0.1M à pH 3.

Tissu 1, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	17082	74404	782560	468114	406315	114550	1081463	1460498	814031	18199	67034	1173690	265110	3650769
Ecart-type intensités	2408	43675	218843	137007	86173	23300	111940	464876	257367	4785	43955	206981	195334	781583
Coefficient variation [%]	14	59	28	29	21	20	10	32	32	26	66	18	74	21

Tissu 2, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	14235	97754	1014389	797412	621157	156227	1262172	2083094	1090436	18383	100505	1708834	291017	5884175
Ecart-type intensités	3091	35851	601097	53625	48368	27403	159961	1383327	361119	2369	38454	124910	154065	1012225
Coefficient variation [%]	22	37	59	7	8	18	13	66	33	13	38	7	53	17

Tissu 3, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	28119	286401	2350550	730153	749289	93292	1225921	2838634	2437336	28648	256243	1728861	1392183	3456177
Ecart-type intensités	7984	131451	1409264	159679	152819	40965	520326	620145	1000765	7579	108308	482947	749171	3045729
Coefficient variation [%]	28	46	60	22	20	44	42	22	41	26	42	28	54	88

Tissu 1,2,3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	19812	152853	1382500	665226	592253	121356	1189852	2127409	1447268	21743	141260	1537128	649436	4330374
Ecart-type intensités	7334	116244	846332	173985	173304	32015	95602	690136	868491	5980	100974	314906	643368	1349144
Coefficient variation [%]	37	76	61	26	29	26	8	32	60	28	71	20	99	31

Résultats pour la **répétabilité** obtenus avec 15 couches de **DHB 30mg/ml dans 50%MeOH/ 50%H₂O / 0.1%TFA et avec lavage au tampon d'acétate d'ammonium 0.1M à pH 10** sprayées à couche 1 : 10ml/min, couche 2 : 20ml/min, couche 3 : 30ml/min et couche 4+ : 40ml/min.

Tableau 42: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 1 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice DHB 30mg/ml dans 50%MeOH / 50%H₂O / 0.1%TFA avec lavage au tampon acétate d'ammonium 0.1M à pH 10.

Tissu 1, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	10241	100894	520808	1165725	1414854	142023	2016742	3715840	2837446	34025	45512	2690314	243280	4302733
Ecart-type intensités	3477	29794	205924	364405	502011	60019	1379597	2960253	1121987	9330	19571	1567503	83896	3297388
Coefficient variation [%]	34	30	40	31	35	42	68	80	40	27	43	58	34	77

Tissu 1, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	11782	105711	672865	1157833	1055888	169680	2286087	3768453	2216863	38214	46620	3304874	299824	5543598
Ecart-type intensités	3079	23354	128083	257233	279804	35960	739082	1597362	669870	10483	11521	1023944	105415	2322833
Coefficient variation [%]	26	22	19	22	26	21	32	42	30	27	25	31	35	42

Tissu 1, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	12022	159752	858776	1267218	1085118	178375	2053981	5007452	2664793	52022	56372	2574880	425510	7207948
Ecart-type intensités	4170	38972	200807	222075	261884	24378	771469	2473620	806787	24420	17965	713073	153744	3837959
Coefficient variation [%]	35	24	23	18	24	14	38	49	30	47	32	28	36	53

Tissu 1, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	11348	122119	684150	1196925	1185287	163359	2118937	4163915	2573034	41420	49501	2856689	322871	5684760
Ecart-type intensités	966	32680	169266	61003	199348	18982	145949	730998	320305	9417	5976	392407	93276	1457743
Coefficient variation [%]	9	27	25	5	17	12	7	18	12	23	12	14	29	26

Tableau 43: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 2 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice DHB 30mg/ml dans 50%MeOH / 50%H₂O / 0.1%TFA avec lavage au tampon acétate d'ammonium 0.1M à pH 10.

Tissu 2, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	22193	193854	2662277	1389444	1637526	123563	3558411	12672189	6074843	29901	94861	4985743	591357	6931586
Ecart-type intensités	7257	50823	801391	458515	553957	44784	1535682	5562717	2155840	9266	27177	1688621	158860	3559433
Coefficient variation [%]	33	26	30	33	34	36	43	44	35	31	29	34	27	51

Tissu 2, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	26537	202789	2785387	1211986	1488747	152532	3234858	9816230	5335887	30296	93185	4300717	628422	7698125
Ecart-type intensités	9876	91504	499637	373243	364485	33722	746574	3209104	1740260	8936	34190	909551	300295	2208795
Coefficient variation [%]	37	45	18	31	24	22	23	33	33	29	37	21	48	29

Tissu 2, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	14524	184545	2485650	1100867	1172275	176830	3488552	9200996	3652941	41468	70667	4213801	637669	11921552
Ecart-type intensités	6776	46489	502427	226551	233825	44512	1126612	2908625	724243	12085	17506	856886	175518	5575043
Coefficient variation [%]	47	25	20	21	20	25	32	32	20	29	25	20	28	47

Tissu 2, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	21085	193729	2644438	1234099	1432849	150975	3427274	10563138	5021224	33888	86238	4500087	619149	8850421
Ecart-type intensités	6083	9123	150663	145554	237609	26668	170258	1852215	1241234	6567	13511	422830	24509	2687151
Coefficient variation [%]	29	5	6	12	17	18	5	18	25	19	16	9	4	30

Tableau 44: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 3 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice DHB 30mg/ml dans 50%MeOH / 50%H₂O / 0.1%TFA avec lavage au tampon acétate d'ammonium 0.1M à pH 10.

Tissu 3, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	18144	118567	1749117	875475	1091613	219226	3503750	5287978	3471451	25091	45855	4573454	346526	10975267
Ecart-type intensités	4807	57351	424583	229019	204531	37970	866283	1437591	760987	7498	18661	1004171	169817	3111450
Coefficient variation [%]	26	48	24	26	19	17	25	27	22	30	41	22	49	28

Tissu 3, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	14450	269915	1933874	739174	918216	521298	3311844	4402168	2897710	21307	523928	4028206	225503	4380043
Ecart-type intensités	10673	825712	961074	424347	561397	1215403	2182544	2439155	1892024	10016	2013455	2244162	153215	2476800
Coefficient variation [%]	74	306	50	57	61	233	66	55	65	47	384	56	68	57

Tissu 3, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	33398	211853	1956318	889801	865801	168514	1508283	3400448	4235668	38363	41163	2666591	616257	2218254
Ecart-type intensités	10431	104846	889747	431790	370320	35990	497815	1336191	2330380	8497	22147	796893	379247	524456
Coefficient variation [%]	31	49	45	49	43	21	33	39	55	22	54	30	62	24

Tissu 3, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	21997	200112	1879770	834817	958543	303013	2774626	4363531	3534943	28254	203649	3756084	396095	5857855
Ecart-type intensités	10045	76354	113704	83138	118184	190734	1100875	944358	671235	8957	277380	982125	200038	4561717
Coefficient variation [%]	46	38	6	10	12	63	40	22	19	32	136	26	51	78

Tableau 45: Répétabilité : intensités moyennes des tissus 1,2 et 3 sur 9 acquisitions de 100 pixels pour la matrice DHB 30mg/ml dans 50%MeOH/ 50%H₂O / 0.1%TFA avec lavage au tampon d'acétate d'ammonium 0.1M à pH 10.

Tissu 1, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	11348	122119	684150	1196925	1185287	163359	2118937	4163915	2573034	41420	49501	2856689	322871	5684760
Ecart-type intensités	966	32680	169266	61003	199348	18982	145949	730998	320305	9417	5976	392407	93276	1457743
Coefficient variation [%]	9	27	25	5	17	12	7	18	12	23	12	14	29	26

Tissu 2, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	21085	193729	2644438	1234099	1432849	150975	3427274	10563138	5021224	33888	86238	4500087	619149	8850421
Ecart-type intensités	6083	9123	150663	145554	237609	26668	170258	1852215	1241234	6567	13511	422830	24509	2687151
Coefficient variation [%]	29	5	6	12	17	18	5	18	25	19	16	9	4	30

Tissu 3, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	21997	200112	1879770	834817	958543	303013	2774626	4363531	3534943	28254	203649	3756084	396095	5857855
Ecart-type intensités	10045	76354	113704	83138	118184	190734	1100875	944358	671235	8957	277380	982125	200038	4561717
Coefficient variation [%]	46	38	6	10	12	63	40	22	19	32	136	26	51	78

Tissu 1,2,3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	18143	171987	1736119	1088614	1192226	205782	2773612	6363528	3709734	34521	113129	3704287	446039	6797678
Ecart-type intensités	5902	43304	988008	220579	237229	84431	654169	3638338	1233419	6606	80515	822922	154324	1779833
Coefficient variation [%]	33	25	57	20	20	41	24	57	33	19	71	22	35	26

Résultats pour la **répétabilité** obtenus avec 15 couches de **DHB 30mg/ml dans 50%MeOH/ 50%H₂O / 0.1%TFA** et avec lavage au **tampon d'acétate d'ammonium 0.01M à pH 3** sprayées à couche 1 : 10ml/min, couche 2 : 20ml/min, couche 3 : 30ml/min et couche 4+ : 40ml/min.

Tableau 46: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 1 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice DHB 30mg/ml dans 50%MeOH / 50%H₂O / 0.1%TFA avec lavage au tampon acétate d'ammonium 0.01M à pH 3.

Tissu 1, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	36768	45521	264952	314718	143386	224507	524080	383676	276488	43859	45224	713680	63428	3277439
Ecart-type intensités	2042	11489	164242	201745	72782	128675	299480	317926	150846	11479	993	458795	41685	2062596
Coefficient variation [%]	6	25	62	64	51	57	57	83	55	26	2	64	66	63

Tissu 1, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	36516	48605	667909	303984	198876	148986	648816	1053989	559847	42176	42745	677659	140701	3203790
Ecart-type intensités	5614	26784	443537	149658	113361	77860	486919	983334	321218	5539	15393	410798	281743	2504958
Coefficient variation [%]	15	55	66	49	57	52	75	93	57	13	36	61	200	78

Tissu 1, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	42161	52163	407840	307291	167612	227534	543015	492648	433186	45410	43987	614316	101084	1859940
Ecart-type intensités	7443	28234	333736	137358	68440	101939	386477	441378	254386	11656	8293	320043	205085	1586932
Coefficient variation [%]	18	54	82	45	41	45	71	90	59	26	19	52	203	85

Tissu 1, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	38482	48763	446900	308664	169958	200342	571970	643438	423174	43815	43985	668552	101738	2780390
Ecart-type intensités	3189	3324	204298	5497	27819	44502	67220	359699	141945	1617	1240	50304	38641	797983
Coefficient variation [%]	8	7	46	2	16	22	12	56	34	4	3	8	38	29

Tableau 47: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 2 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice DHB 30mg/ml dans 50%MeOH / 50%H₂O / 0.1%TFA avec lavage au tampon acétate d'ammonium 0.01M à pH 3.

Tissu 2, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	36743	96052	1839229	686251	433359	149604	1092580	2735404	1330106	45901	107948	1534577	334362	4472252
Ecart-type intensités	1598	72769	1556375	572542	290289	79013	964507	3168077	1027845	6596	125782	1129145	353822	4087218
Coefficient variation [%]	4	76	85	83	67	53	88	116	77	14	117	74	106	91

Tissu 2, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	43516	90816	3217487	842401	700458	180764	1609114	4585070	1579403	51063	99647	2562010	318624	5968540
Ecart-type intensités	5662	58182	2091497	576788	380641	77874	1105587	4125044	971372	7698	75061	1377013	368062	4521470
Coefficient variation [%]	13	64	65	68	54	43	69	90	62	15	75	54	116	76

Tissu 2, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	32127	73429	1687220	797940	594545	185965	1151633	3464557	1189882	42060	76161	1904393	227138	4906091
Ecart-type intensités	4069	45127	914580	450641	290812	74065	748971	2911554	695334	7687	53071	924099	161716	3221911
Coefficient variation [%]	13	61	54	56	49	40	65	84	58	18	70	49	71	66

Tissu 2, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	37462	86766	2247979	775531	576121	172111	1284442	3595010	1366464	46341	94585	2000327	293375	5115628
Ecart-type intensités	5728	11843	843052	80451	134499	19664	282720	931708	197289	4518	16487	520391	57900	769837
Coefficient variation [%]	15	14	38	10	23	11	22	26	14	10	17	26	20	15

Tableau 48: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 3 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice DHB 30mg/ml dans 50%MeOH / 50%H₂O / 0.1%TFA avec lavage au tampon acétate d'ammonium 0.01M à pH 3.

Tissu 3, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	36035	69034	1484361	817719	534697	205288	1009213	2509513	922743	46351	63160	1963025	178811	5119345
Ecart-type intensités	1800	41960	1604003	621590	312616	110675	723954	2785745	767581	5849	36804	1170951	182766	3322695
Coefficient variation [%]	5	61	108	76	58	54	72	111	83	13	58	60	102	65

Tissu 3, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	37765	78446	1541494	721526	477878	190850	1158920	2258750	892324	39736	61400	1974897	227099	5622798
Ecart-type intensités	1469	67758	1432748	519916	311838	97454	968612	2105969	695298	10184	42848	1143591	293647	4420298
Coefficient variation [%]	4	86	93	72	65	51	84	93	78	26	70	58	129	79

Tissu 3, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	38183	85123	621389	889031	616612	272734	1389052	1551969	1067369	43674	66683	2025348	233395	8995437
Ecart-type intensités	2086	73226	422243	644036	364085	140395	1067868	1417114	840945	12489	40180	1188588	256330	6529140
Coefficient variation [%]	5	86	68	72	59	51	77	91	79	29	60	59	110	73

Tissu 3, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	37328	77534	1215748	809425	543062	222957	1185728	2106744	960812	43253	63748	1987757	213102	6579193
Ecart-type intensités	1139	8083	515522	84060	69744	43708	191333	496540	93526	3327	2690	33092	29863	2107615
Coefficient variation [%]	3	10	42	10	13	20	16	24	10	8	4	2	14	32

Tableau 49: Répétabilité : intensités moyennes des tissus 1,2 et 3 sur 9 acquisitions de 100 pixels pour la matrice DHB 30mg/ml dans 50%MeOH/ 50%H₂O / 0.1%TFA avec lavage au tampon d'acétate d'ammonium 0.01M à pH 3.

Tissu 1, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	38482	48763	446900	308664	169958	200342	571970	643438	423174	43815	43985	668552	101738	2780390
Ecart-type intensités	3189	3324	204298	5497	27819	44502	67220	359699	141945	1617	1240	50304	38641	797983
Coefficient variation [%]	8	7	46	2	16	22	12	56	34	4	3	8	38	29

Tissu 2, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	37462	86766	2247979	775531	576121	172111	1284442	3595010	1366464	46341	94585	2000327	293375	5115628
Ecart-type intensités	5728	11843	843052	80451	134499	19664	282720	931708	197289	4518	16487	520391	57900	769837
Coefficient variation [%]	15	14	38	10	23	11	22	26	14	10	17	26	20	15

Tissu 3, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	37328	77534	1215748	809425	543062	222957	1185728	2106744	960812	43253	63748	1987757	213102	6579193
Ecart-type intensités	1139	8083	515522	84060	69744	43708	191333	496540	93526	3327	2690	33092	29863	2107615
Coefficient variation [%]	3	10	42	10	13	20	16	24	10	8	4	2	14	32

Tissu 1,2,3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	37757	71021	1303542	631207	429714	198470	1014047	2115064	916816	44470	67439	1552212	202738	4825070
Ecart-type intensités	631	19821	903743	279844	225561	25475	386018	1475804	473181	1645	25501	765298	96238	1915997
Coefficient variation [%]	2	28	69	44	52	13	38	70	52	4	38	49	47	40

Résultats pour la **répétabilité** obtenus avec 15 couches de **DHB 30mg/ml dans 50%MeOH / 50%H₂O / 0.1%TFA** et avec lavage au **tampon d'acétate d'ammonium 0.01M à pH 10** sprayées à couche 1 : 10ml/min, couche 2 : 20ml/min, couche 3 : 30ml/min et couche 4+ : 40ml/min.

Tableau 50: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 1 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice DHB 30mg/ml dans 50%MeOH / 50%H₂O / 0.1%TFA avec lavage au tampon acétate d'ammonium 0.01M à pH 10.

Tissu 1, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	42541	249737	1380390	1178739	1459325	271891	4590116	2861666	2719902	50322	69383	6067529	637738	10416594
Ecart-type intensités	12865	298460	1017100	889337	894169	161826	3265052	2327224	2161170	18627	50378	3814395	914943	7694862
Coefficient variation [%]	30	120	74	75	61	60	71	81	79	37	73	63	143	74

Tissu 1, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	70512	419059	3306867	1651444	1850998	185541	4760112	6620737	6425796	44990	127338	5691923	1156870	10622078
Ecart-type intensités	69662	434170	2235135	1328692	1291860	112614	3326021	5499736	5351583	10907	117722	3520320	1307317	8269224
Coefficient variation [%]	99	104	68	80	70	61	70	83	83	24	92	62	113	78

Tissu 1, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	43145	232447	1739208	1116236	1282435	244331	4184823	4022255	3719164	48566	79330	5638598	645365	12300374
Ecart-type intensités	18561	286368	1347723	857937	769353	130015	2671631	3161499	2930551	15066	74575	3096548	926306	8631280
Coefficient variation [%]	43	123	77	77	60	53	64	79	79	31	94	55	144	70

Tissu 1, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	52066	300414	2142155	1315473	1530919	233921	4511684	4501553	4288287	47959	92017	5799350	813324	11113015
Ecart-type intensités	15978	103112	1024501	292633	290964	44106	295556	1924824	1917378	2717	30990	233775	297544	1033403
Coefficient variation [%]	31	34	48	22	19	19	7	43	45	6	34	4	37	9

Tableau 51: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 2 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice DHB 30mg/ml dans 50%MeOH / 50%H₂O / 0.1%TFA avec lavage au tampon acétate d'ammonium 0.01M à pH 10.

Tissu 2, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	48098	204231	3651070	2013700	1921290	189333	2814312	8930200	5944776	48588	101020	4408688	435633	8059239
Ecart-type intensités	18312	128974	1754314	970620	756558	63379	1099090	4449152	3036370	7345	55872	1309784	273264	3341317
Coefficient variation [%]	38	63	48	48	39	33	39	50	51	15	55	30	63	41

Tissu 2, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	64562	244515	2991670	2532703	2276750	192024	3516635	8942094	7076401	232294	149281	5670660	508291	9508641
Ecart-type intensités	45211	173056	1272581	1589356	1020754	74803	1437145	5094710	3871595	53175	71837	1784388	323334	3752236
Coefficient variation [%]	70	71	43	63	45	39	41	57	55	23	48	31	64	39

Tissu 2, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	40743	202071	3249882	2355708	2198131	165730	3406768	15248504	7427711	46965	126977	5400465	566499	8469352
Ecart-type intensités	11362	137717	1455473	1110957	891907	54239	1532007	10581002	3396045	12678	101003	2184228	490076	5025996
Coefficient variation [%]	28	68	45	47	41	33	45	69	46	27	80	40	87	59

Tissu 2, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	51134	216939	3297541	2300704	2132057	182362	3245905	11040266	6816296	109282	125759	5159938	503474	8679077
Ecart-type intensités	12196	23906	332273	263837	186714	14467	377786	3644446	774929	106534	24154	664480	65566	747114
Coefficient variation [%]	24	11	10	11	9	8	12	33	11	97	19	13	13	9

Tableau 52: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 3 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice DHB 30mg/ml dans 50%MeOH / 50%H₂O / 0.1%TFA avec lavage au tampon acétate d'ammonium 0.01M à pH 10.

Tissu 3, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	51805	243715	1684977	1375634	1573886	170010	2564129	4194766	3949137	43935	128109	3690002	608706	8649982
Ecart-type intensités	34818	251705	1070963	1118719	1086734	86820	1650704	3760305	3769812	9120	120266	2148559	666887	6521959
Coefficient variation [%]	67	103	64	81	69	51	64	90	95	21	94	58	110	75

Tissu 3, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	44146	161697	2100558	1490805	1879619	161891	3311403	6919881	4788169	48015	89219	4555977	317173	10251598
Ecart-type intensités	21242	163757	1578331	1318102	1327960	86833	2292079	4847336	4449709	8014	68235	2703143	334857	6711560
Coefficient variation [%]	48	101	75	88	71	54	69	70	93	17	76	59	106	65

Tissu 3, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	60800	300737	3576968	2027470	2238232	148932	3218969	8431630	8454591	45735	162491	5049964	779390	6613141
Ecart-type intensités	35098	251648	2074803	1410361	1294108	82522	2123833	7437997	5636458	5988	148230	2879156	925275	4939442
Coefficient variation [%]	58	84	58	70	58	55	66	88	67	13	91	57	119	75

Tissu 3, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	52250	235383	2454168	1631303	1897246	160278	3031500	6515426	5730632	45895	126606	4431981	568423	8504907
Ecart-type intensités	8336	69893	994328	347890	332524	10631	407386	2147194	2396029	2044	36659	688408	233727	1823562
Coefficient variation [%]	16	30	41	21	18	7	13	33	42	4	29	16	41	21

Tableau 53: Répétabilité : intensités moyennes des tissus 1,2 et 3 sur 9 acquisitions de 100 pixels pour la matrice DHB 30mg/ml dans 50%MeOH / 50%H₂O / 0.1%TFA avec lavage au tampon d'acétate d'ammonium 0.01M à pH 10.

Tissu 1, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	52066	300414	2142155	1315473	1530919	233921	4511684	4501553	4288287	47959	92017	5799350	813324	11113015
Ecart-type intensités	15978	103112	1024501	292633	290964	44106	295556	1924824	1917378	2717	30990	233775	297544	1033403
Coefficient variation [%]	31	34	48	22	19	19	7	43	45	6	34	4	37	9

Tissu 2, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	51134	216939	3297541	2300704	2132057	182362	3245905	11040266	6816296	109282	125759	5159938	503474	8679077
Ecart-type intensités	12196	23906	332273	263837	186714	14467	377786	3644446	774929	106534	24154	664480	65566	747114
Coefficient variation [%]	24	11	10	11	9	8	12	33	11	97	19	13	13	9

Tissu 3, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	52250	235383	2454168	1631303	1897246	160278	3031500	6515426	5730632	45895	126606	4431981	568423	8504907
Ecart-type intensités	8336	69893	994328	347890	332524	10631	407386	2147194	2396029	2044	36659	688408	233727	1823562
Coefficient variation [%]	16	30	41	21	18	7	13	33	42	4	29	16	41	21

Tissu 1,2,3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	51817	250912	2631288	1749160	1853407	192187	3596363	7352415	5611739	67712	114794	5130423	628407	9432333
Ecart-type intensités	598	43851	597710	503078	302957	37792	799907	3348747	1268191	36016	19730	684162	163402	1458116
Coefficient variation [%]	1	17	23	29	16	20	22	46	23	53	17	13	26	15

Résultats pour la **répétabilité** obtenus avec 15 couches de **DHB 30mg/ml** dans **50%MeOH/ 50%H₂O / 0.1%TFA** et sans lavage au tampon (**contrôle lavage**) sprayées à couche 1 : 10ml/min, couche 2 : 20ml/min, couche 3 : 30ml/min et couche 4+ : 40ml/min.

Tableau 54: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 1 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice DHB 30mg/ml dans 50%MeOH / 50%H₂O / 0.1%TFA sans lavage (contrôle).

Tissu 1, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	49911	331579	4802312	624227	520219	111585	1758673	6171062	2923141	35735	187496	2467237	1199196	4808442
Ecart-type intensités	24879	315887	3041580	415736	318559	52268	1380810	7124836	1958319	7681	136237	1493096	1329236	4960586
Coefficient variation [%]	50	95	63	67	61	47	79	115	67	21	73	61	111	103

Tissu 1, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	41165	137773	2499970	393136	342148	142137	1705897	2811989	1455413	40994	92173	2454298	543591	6402807
Ecart-type intensités	9423	150503	2461638	351338	300417	92584	1683309	3750877	1375184	6241	79457	2284651	931970	6733604
Coefficient variation [%]	23	109	98	89	88	65	99	133	94	15	86	93	171	105

Tissu 1, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	46560	140500	3544417	554787	487681	146749	1851035	4894459	1935589	45095	122545	2738315	511471	6861658
Ecart-type intensités	23830	169583	2790298	467510	345007	81158	1330314	4958912	1588098	3942	165454	1835336	942090	6133430
Coefficient variation [%]	51	121	79	84	71	55	72	101	82	9	135	67	184	89

Tissu 1, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitryptiline
Moyenne intensités [AU]	45879	203284	3615566	524050	450016	133490	1771868	4625837	2104714	40608	134071	2553283	751419	6024302
Ecart-type intensités	4413	111115	1152819	118572	94823	19110	73463	1695571	748337	4692	48696	160373	388118	1077670
Coefficient variation [%]	10	55	32	23	21	14	4	37	36	12	36	6	52	18

Tableau 55: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 2 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice DHB 30mg/ml dans 50%MeOH / 50%H₂O / 0.1%TFA sans lavage (contrôle).

Tissu 2, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	48492	154065	2020227	246205	245234	81790	1157348	2549977	1143737	45998	108567	1638845	516780	3403009
Ecart-type intensités	14810	231270	2523654	276601	289608	68126	2073773	5386381	1599863	11690	140333	2316237	975723	5950654
Coefficient variation [%]	31	150	125	112	118	83	179	211	140	25	129	141	189	175

Tissu 2, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	44970	184431	8806999	510491	525534	83794	1888174	8736614	3216457	40346	191084	2778696	828283	4491339
Ecart-type intensités	14003	178468	5049844	309945	314699	43189	1407130	9356546	1891938	11055	179550	1615886	1054028	4002381
Coefficient variation [%]	31	97	57	61	60	52	75	107	59	27	94	58	127	89

Tissu 2, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	43768	167921	8434525	685578	673730	159297	2516512	8873508	3015490	39833	152232	3887927	610303	6925799
Ecart-type intensités	16628	141022	3454053	401407	315305	64128	1249831	5675394	1668792	9673	116680	1728572	576718	4086708
Coefficient variation [%]	38	84	41	59	47	40	50	64	55	24	77	44	94	59

Tissu 2, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	45743	168806	6420584	480758	481499	108294	1854011	6720033	2458561	42059	150628	2768489	651789	4940049
Ecart-type intensités	2455	15202	3815369	221190	217615	44182	680226	3612023	1143096	3421	41282	1124576	159842	1803751
Coefficient variation [%]	5	9	59	46	45	41	37	54	46	8	27	41	25	37

Tableau 56: Répétabilité : intensités moyennes pour le tissu 3 avec 3 acquisitions de 100pixels sur le même tissu pour la matrice DHB 30mg/ml dans 50%MeOH / 50%H₂O / 0.1%TFA sans lavage (contrôle).

Tissu 3, acquisition 1

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	38894	100213	4102438	285818	297947	132900	2065905	4147423	1493427	46456	92900	2976670	362779	4888383
Ecart-type intensités	10407	140425	3899962	239508	279718	88823	2210524	6104977	1670350	5216	158171	2663108	746906	5027963
Coefficient variation [%]	27	140	95	84	94	67	107	147	112	11	170	89	206	103

Tissu 3, acquisition 2

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	36884	147484	4577271	358270	305516	108248	2055918	4139092	1586468	38061	127637	2782022	574518	5664455
Ecart-type intensités	6194	161432	3843583	293577	231253	87916	2083450	5122160	1378900	9587	208537	2552674	816434	5162624
Coefficient variation [%]	17	109	84	82	76	81	101	124	87	25	163	92	142	91

Tissu 3, acquisition 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	43772	78005	4202984	340629	315176	150612	2225121	4015459	1508784	43455	54595	3585578	226144	4594166
Ecart-type intensités	16598	73146	4473432	310654	301672	100212	2413106	4457730	1635715	10806	57664	3218074	218966	4041424
Coefficient variation [%]	38	94	106	91	96	67	108	111	108	25	106	90	97	88

Tissu 3, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	39850	108567	4294231	328239	306213	130587	2115648	4100658	1529560	42657	91711	3114757	387814	5049001
Ecart-type intensités	3542	35485	250222	37782	8636	21277	94938	73902	49879	4254	36536	419197	175531	552927
Coefficient variation [%]	9	33	6	12	3	16	4	2	3	10	40	13	45	11

Tableau 57: Répétabilité : intensités moyennes des tissus 1,2 et 3 sur 9 acquisitions de 100 pixels pour la matrice DHB 30mg/ml dans 50%MeOH / 50%H₂O / 0.1%TFA sans lavage (contrôle).

Tissu 1, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	45879	203284	3615566	524050	450016	133490	1771868	4625837	2104714	40608	134071	2553283	751419	6024302
Ecart-type intensités	4413	111115	1152819	118572	94823	19110	73463	1695571	748337	4692	48696	160373	388118	1077670
Coefficient variation [%]	10	55	32	23	21	14	4	37	36	12	36	6	52	18

Tissu 2, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	45743	168806	6420584	480758	481499	108294	1854011	6720033	2458561	42059	150628	2768489	651789	4940049
Ecart-type intensités	2455	15202	3815369	221190	217615	44182	680226	3612023	1143096	3421	41282	1124576	159842	1803751
Coefficient variation [%]	5	9	59	46	45	41	37	54	46	8	27	41	25	37

Tissu 3, moyenne des 3 acquisitions

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	39850	108567	4294231	328239	306213	130587	2115648	4100658	1529560	42657	91711	3114757	387814	5049001
Ecart-type intensités	3542	35485	250222	37782	8636	21277	94938	73902	49879	4254	36536	419197	175531	552927
Coefficient variation [%]	9	33	6	12	3	16	4	2	3	10	40	13	45	11

Tissu 1,2,3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensités [AU]	43824	160219	4776794	444349	412576	124124	1913843	5148843	2030945	41775	125470	2812176	597007	5337784
Ecart-type intensités	3442	47939	1463448	102858	93449	13786	179530	1385797	468874	1054	30386	283275	187891	597033
Coefficient variation [%]	8	30	31	23	23	11	9	27	23	3	24	10	31	11

Tableau 58: Résumé lavages

Sans lavage (contrôle)

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensité [AU]	43824	160219	4776794	444349	412576	124124	1913843	5148843	2030945	42059	125470	2812176	597007	5337784
Ecart-type intensités	3442	47939	1463448	102858	93449	13786	179530	1385797	468874	3421	30386	283275	187891	597033
Coefficient variation [%]	8	30	31	23	23	11	9	27	23	8	24	10	31	11

Lavage à l'acétate d'ammonium 0.1M pH 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensité [AU]	19812	152853	1382500	665226	592253	121356	1189852	2127409	1447268	21743	141260	1537128	649436	4330374
Ecart-type intensités	7334	116244	846332	173985	173304	32015	95602	690136	868491	5980	100974	314906	643368	1349144
Coefficient variation [%]	37	76	61	26	29	26	8	32	60	28	71	20	99	31

Lavage à l'acétate d'ammonium 0.1M pH 10

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensité [AU]	18143	171987	1736119	1088614	1192226	205782	2773612	6363528	3709734	34521	113129	3704287	446039	6797678
Ecart-type intensités	5902	43304	988008	220579	237229	84431	654169	3638338	1233419	6606	80515	822922	154324	1779833
Coefficient variation [%]	33	25	57	20	20	41	24	57	33	19	71	22	35	26

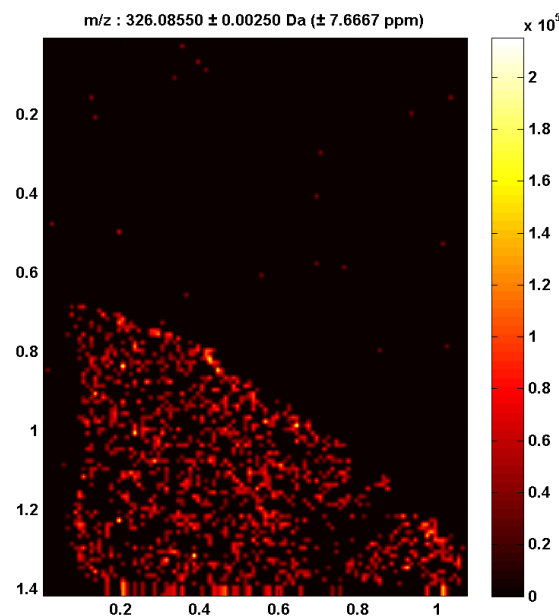
Lavage à l'acétate d'ammonium 0.01M pH 3

Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensité [AU]	37328	77534	1215748	809425	543062	222957	1185728	2106744	960812	44470	63748	1987757	213102	6579193
Ecart-type intensités	1139	8083	515522	84060	69744	43708	191333	496540	93526	1645	2690	33092	29863	2107615
Coefficient variation [%]	3	10	42	10	13	20	16	24	10	4	4	2	14	32

Lavage à l'acétate d'ammonium 0.01M pH 10

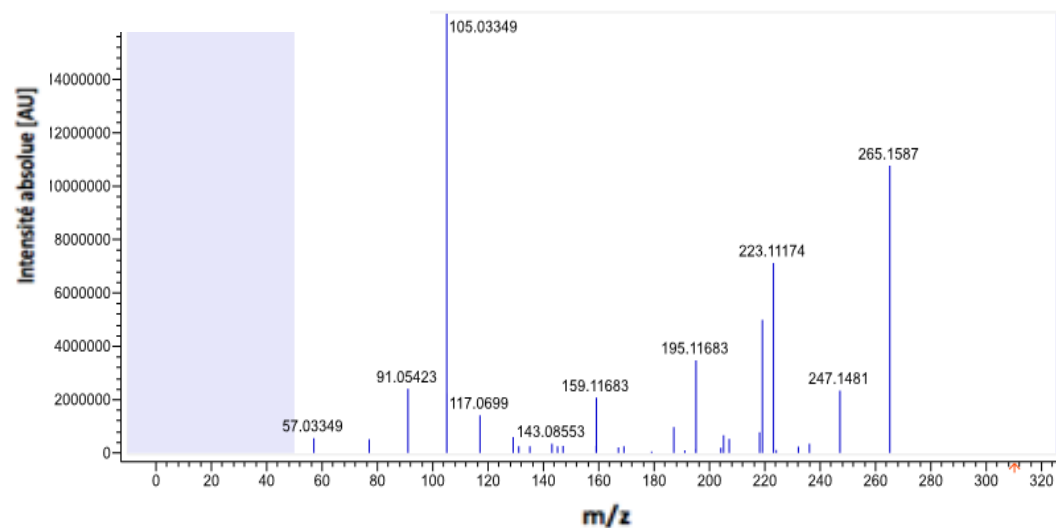
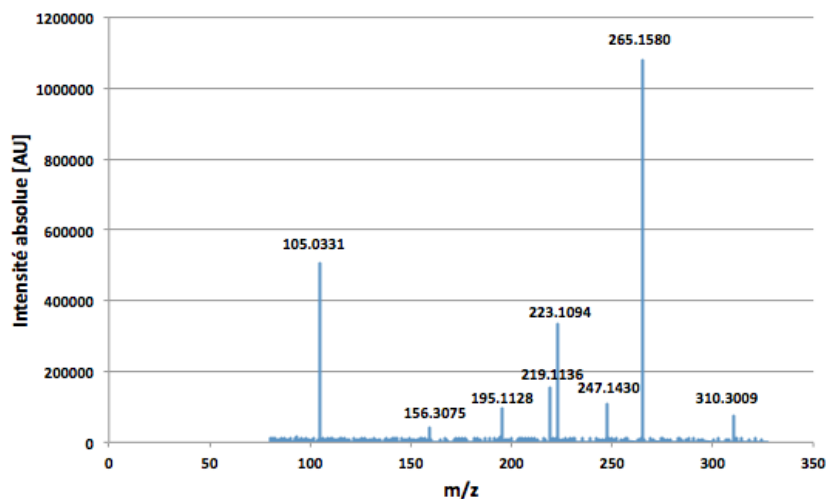
Drogues	Amphétamine	MDMA	Cocaïne	Diazepam	Midazolam	Fluoxetine	Citalopram	Quetiapine	Olanzapine	THC	Morphine	Méthadone	Tramadol	Amitriptyline
Moyenne intensité [AU]	51817	250912	2631288	1749160	1853407	192187	3596363	7352415	5611739	67712	114794	5130423	628407	9432333
Ecart-type intensités	598	43851	597710	503078	302957	37792	799907	3348747	1268191	36016	19730	684162	163402	1458116
Coefficient variation [%]	1	17	23	29	16	20	22	46	23	53	17	13	26	15

7.4 Imagerie

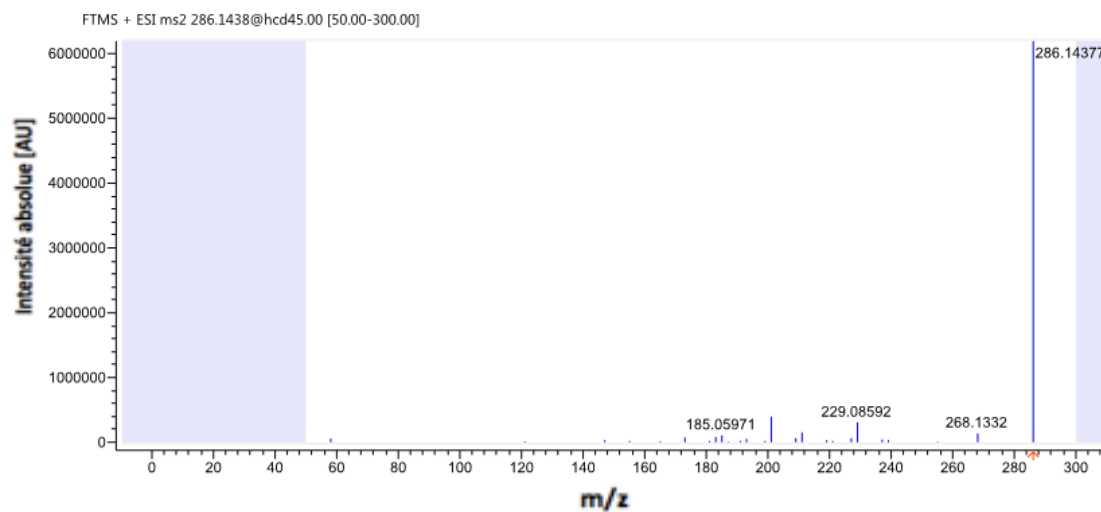
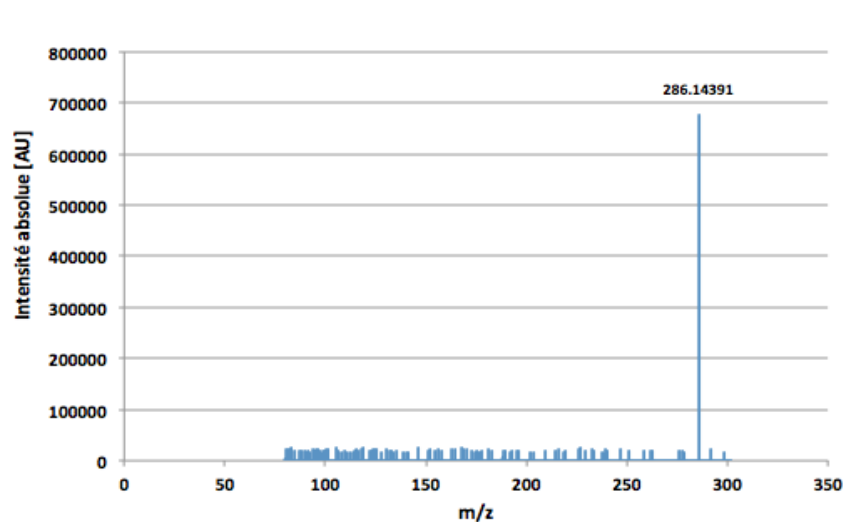


Figures 3 : Image obtenue par imagerie par spectrométrie de masse pour un foie d'une personne ayant consommé du midazolam avec la matrice DHB 30mg/ml 70% MeOH / 30% H₂O / 0.1% TFA sans lavage tampon.

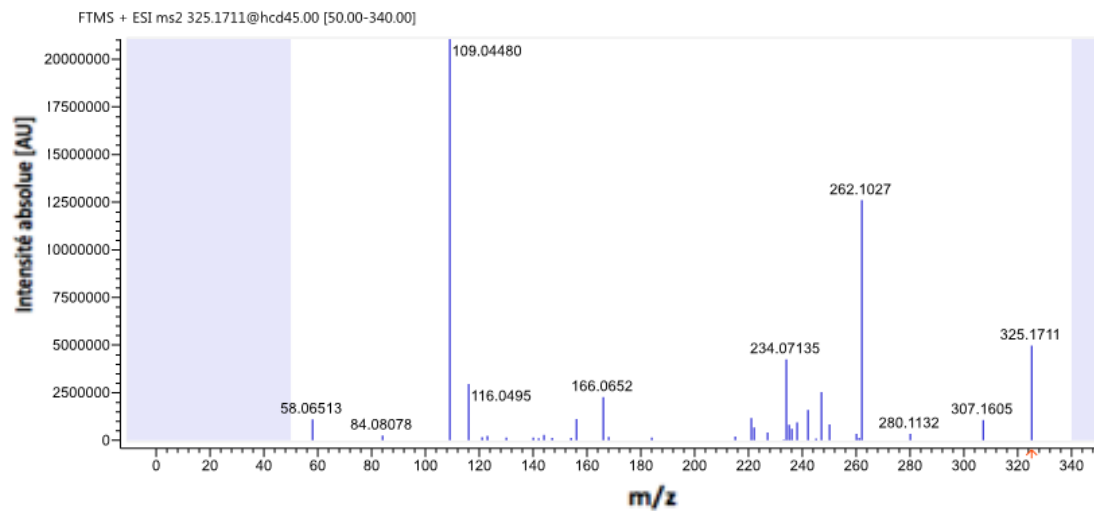
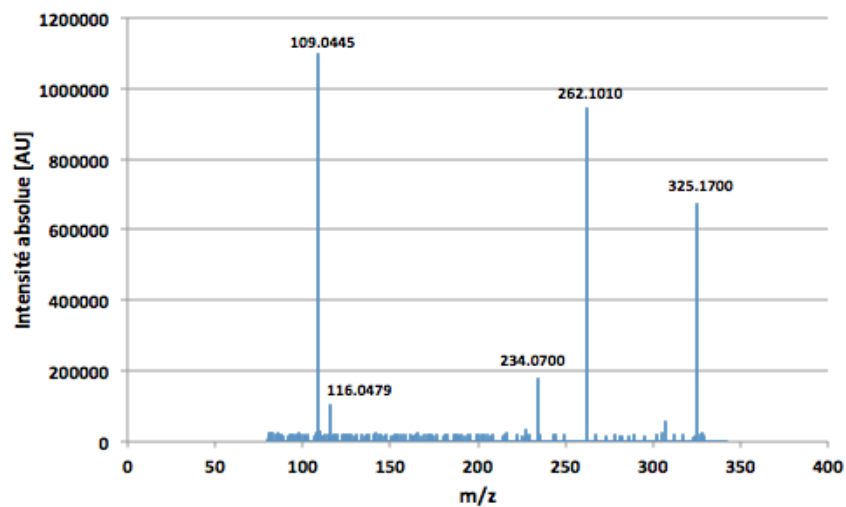
7.5 Screening toxicologique



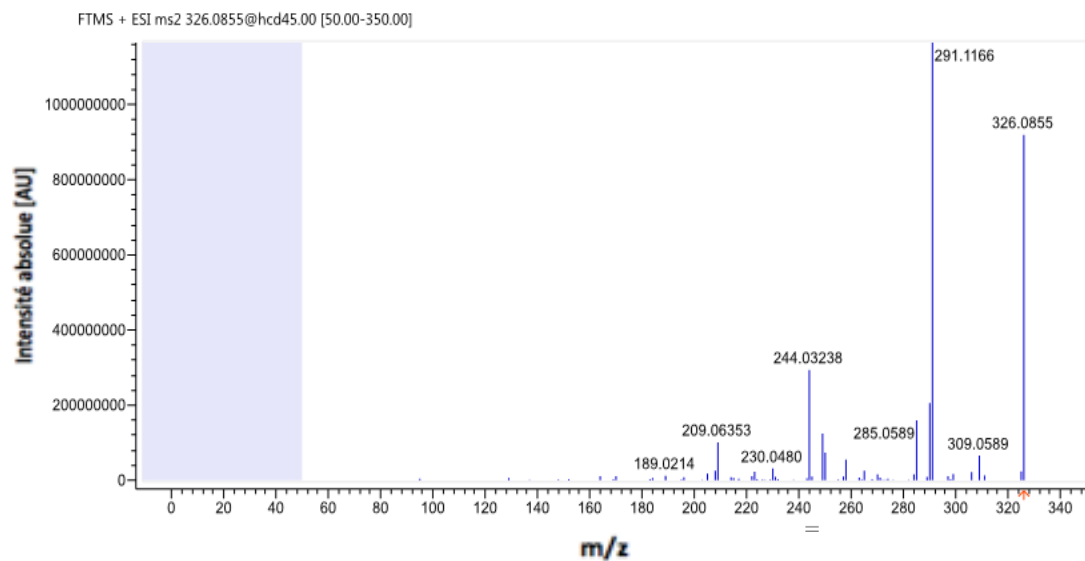
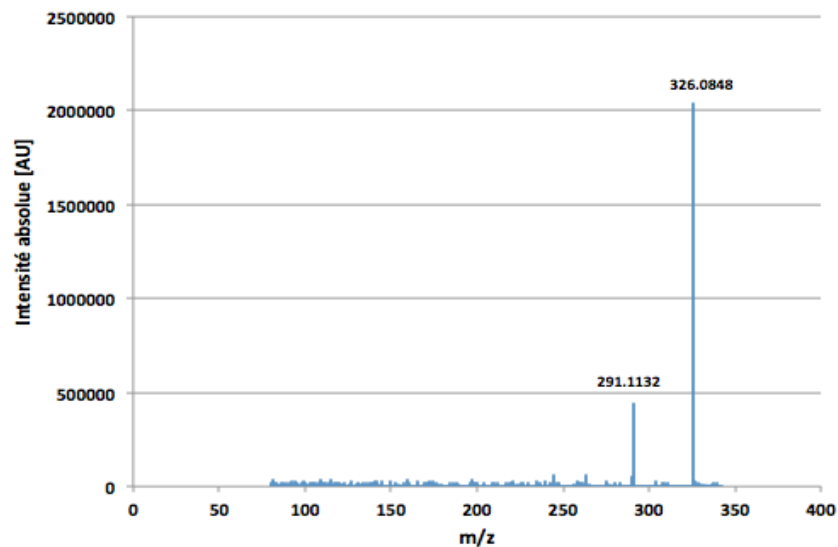
Figures 4 : Spectre de fragmentation MS² de la méthadone obtenu par le screening toxicologique à 45 kJ/mol (en haut) et comparé au spectre de référence (en bas) effectué avec un énergie de 45 kJ/ml.



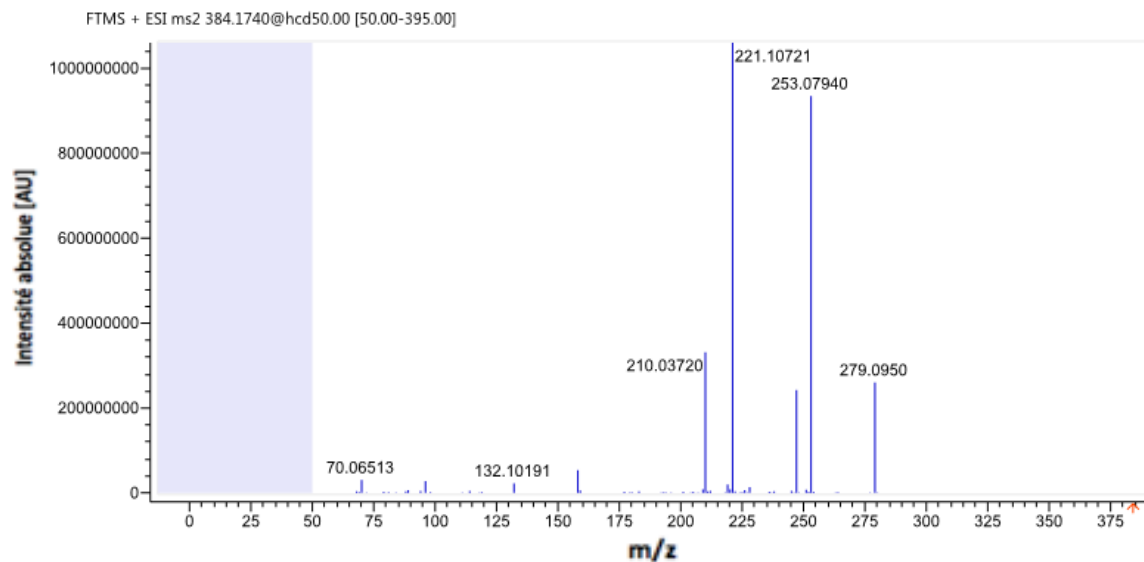
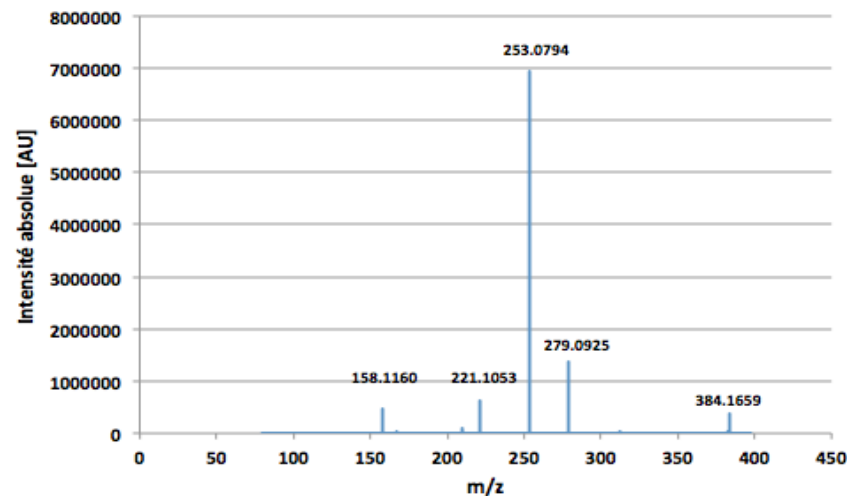
Figures 5 : Spectre de fragmentation MS² de la morphine obtenu par le screening toxicologique à 45 kJ/mol (en haut) et comparé au spectre de référence (en bas) effectué avec un énergie de 45 kJ/ml.



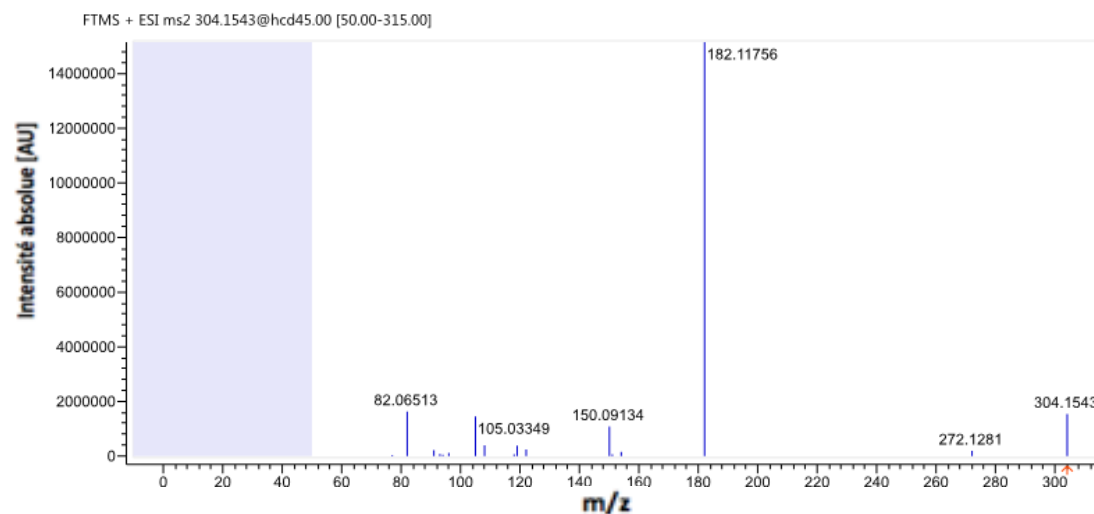
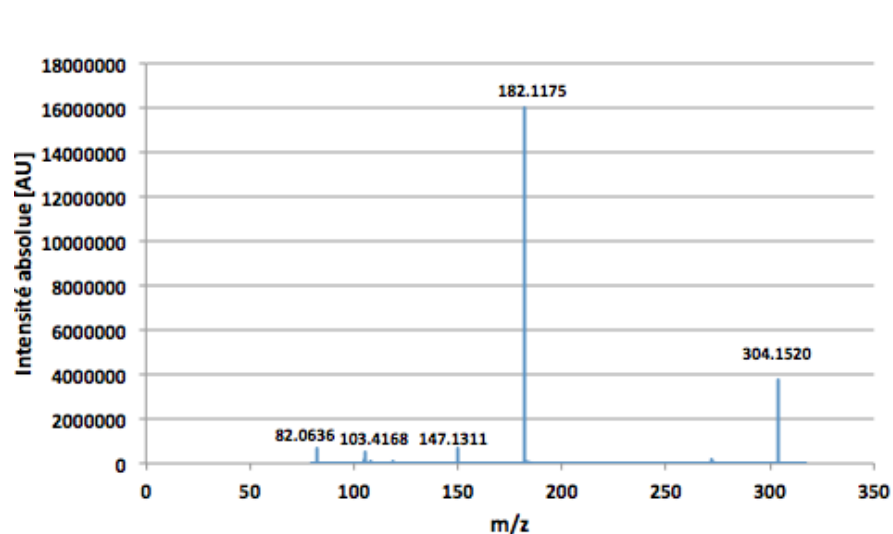
Figures 6 : Spectre de fragmentation MS² de la Citalopram obtenu par le screening toxicologique à 45 kJ/mol (en haut) et comparé au spectre de référence (en bas) effectué avec un énergie de 45 kJ/ml.



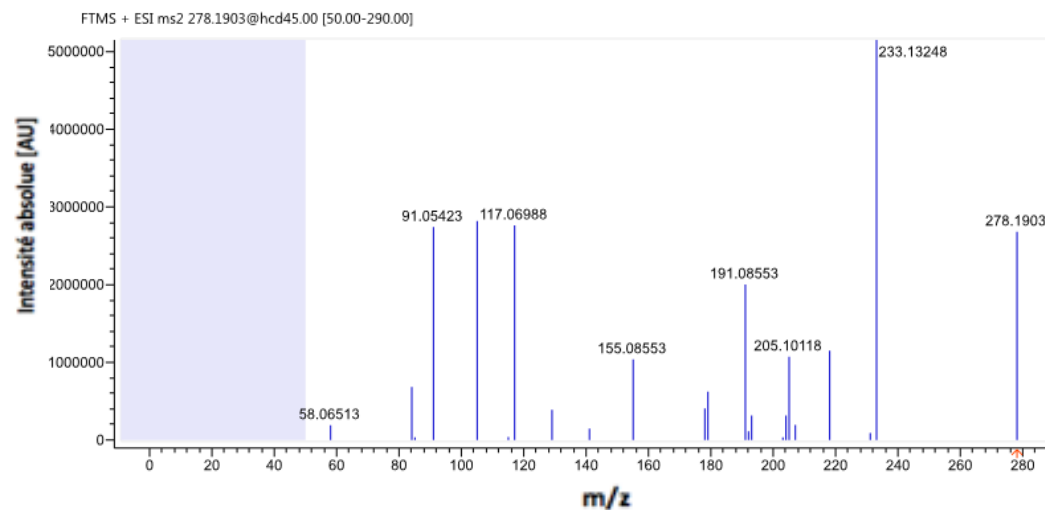
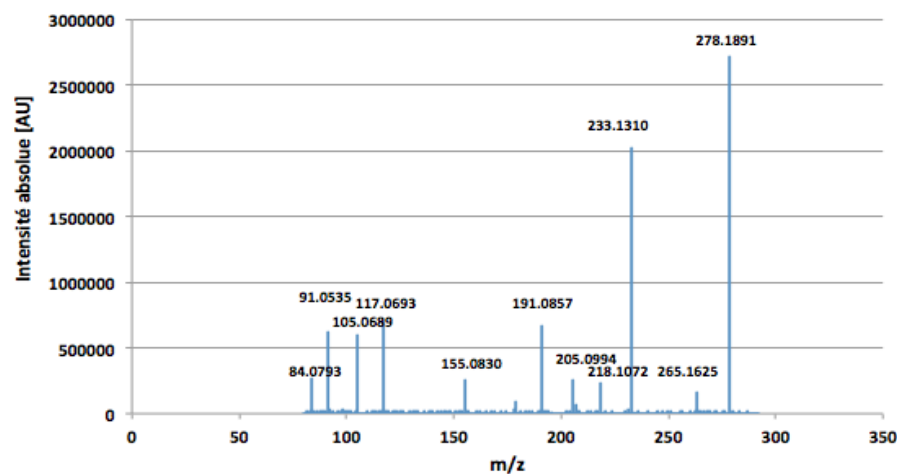
Figures 7 : Spectre de fragmentation MS² de la Midazolam obtenu par le screening toxicologique à 45 kJ/mol (en haut) et comparé au spectre de référence (en bas) effectué avec un énergie de 45 kJ/ml.



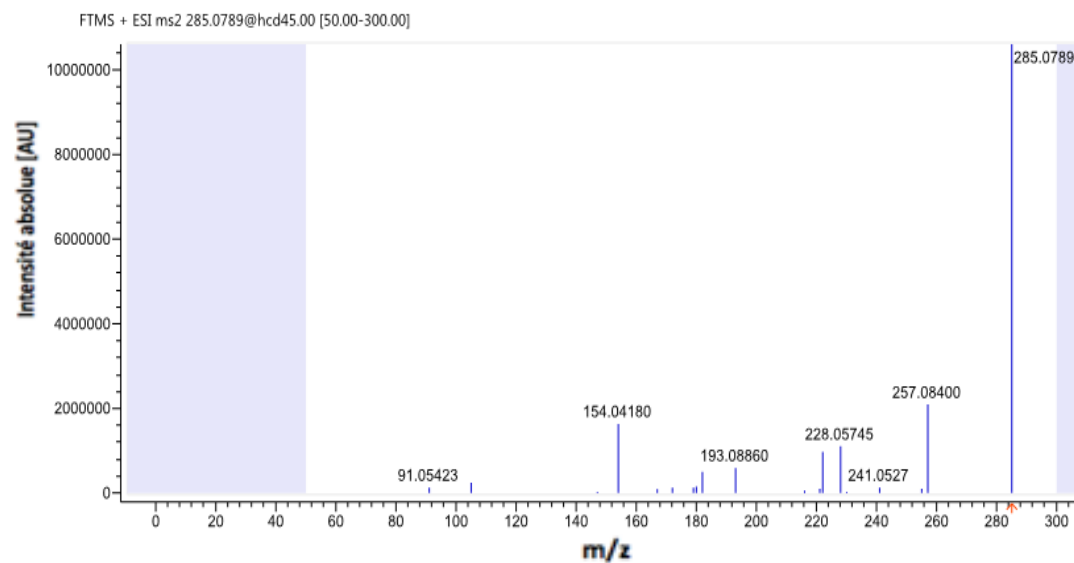
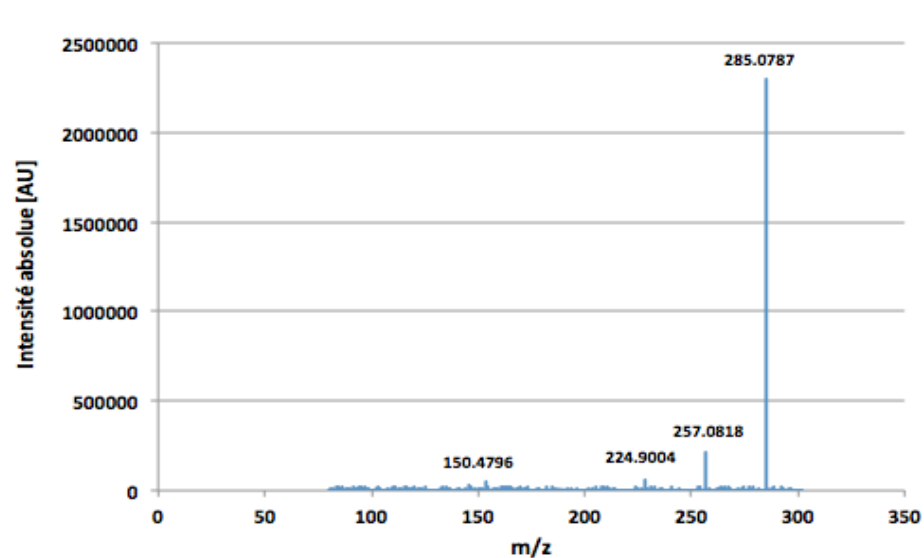
Figures 8 : Spectre de fragmentation MS² de la quetiapine obtenu par le screening toxicologique à 45 kJ/mol (en haut) et comparé au spectre de référence (en bas) effectué avec un énergie de 50 kJ/ml.



Figures 9 : Spectre de fragmentation MS² de cocaïne obtenu par le screening toxicologique à 45 kJ/mol (en haut) et comparé au spectre de référence (en bas) effectué avec un énergie de 45 kJ/ml.



Figures 10 : Spectre de fragmentation MS² de l'amitriptyline obtenu par le screening toxicologique à 45 kJ/mol (en haut) et comparé au spectre de référence (en bas) effectué avec un énergie de 45 kJ/ml.



Figures 11 : Spectre de fragmentation MS² du diazépam obtenu par le screening toxicologique à 45 kJ/mol (en haut) et comparé au spectre de référence (en bas) effectué avec un énergie de 45 kJ/ml.