

* Médecin biologiste
Cliniques universitaires UCL
de Mont-Godinne
5530 Yvoir

Cotinine urinaire : dosage et applications

par le Pr Laurence Galanti*

Le nombre de cigarettes fumées et le questionnaire de Fagerstrom sont des moyens simples à la disposition du médecin généraliste pour l'évaluation du degré de tabagisme. Par ailleurs, les généralistes sont compétents pour démarrer et assurer le suivi d'un sevrage tabagique. Toutefois les méthodes d'appréciation objective de l'imprégnation nicotinique sont utiles à connaître et justifiées dans certaines situations. L'article aborde l'intérêt du dosage d'un métabolite de la nicotine, la cotinine.

PRÉTEST

	Vrai	Faux
1. On peut doser la cotinine dans l'air expiré.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Le taux de cotinine reflète le degré de tabagisme au cours des dernières 48 heures.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Le dosage de la cotinine est remboursé par l'INAMI lors d'un sevrage tabagique.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Réponses au prochain numéro.

ABSTRACT



The quantization of the level of impregnation from tobacco smoke components has many practical applications. Specific of this impregnation, the levels of nicotine as well as of its metabolite, the cotinine, can be measured in various biological liquids. Various measurement methods were developed, allowing the measurement of the total or specific concentration of one or more metabolites. These methods vary in sensitivity, in specificity, in modalities and times for their achievement, and in cost. This measurement is worthwhile for the follow-up of the nicotinic weaning of certain specific groups, such as pregnant woman or patients suffering from cardiovascular pathology.

Keywords: tobacco, weaning, cotinine, nicotine.

L'exposition active et passive aux composants de la fumée de tabac est nocive pour la santé. Le nombre de cigarettes fumées étant un reflet peu fidèle de la quantité réelle de toxiques absorbés par le fumeur⁽¹⁾, des marqueurs biochimiques ont été développés pour évaluer le degré d'imprégnation à ces composés. Les plus fréquemment utilisés sont le monoxyde de carbone dans l'air expiré et la cotinine, spécifique du tabac et métabolite principal de la nicotine^(1,4). Le dosage de la nicotine et de ses métabolites présente de multiples intérêts en clinique, en prévention, en épidémiologie et en recherche.

MÉTABOLISME DE LA NICOTINE

La nicotine est un alcaloïde présent principalement dans le tabac mais aussi dans certaines plantes de la famille des solanacées telles que la tomate, le thé, les pommes de terre, les choux-fleurs et les aubergines. Cet apport alimentaire reste cependant négligeable par rapport à celui lié à la consommation de tabac sauf éventuellement chez certains végétariens^(5,6). Liposoluble, la nicotine est résorbée par ingestion, par contact avec les muqueuses et la peau, et surtout par diffusion dans les alvéoles pulmonaires. Elle est métabolisée dans le foie par le cytochrome P450 CYP2A6 et l'aldéhyde oxydase en divers métabolites dont le principal est la cotinine (70%), elle-même transformée en trans-3'-hydroxycotinine (3HC) par le même cytochrome. La nicotine et la cotinine se retrouvent dans divers milieux biologiques dont le sang, l'urine et la salive. La demi-vie de la nicotine est courte, en moyenne 2 à 3 heures; celle

plus longue de la cotinine est estimée entre 10 et 37 heures en fonction du métabolisme du sujet, reflétant l'intensité du tabagisme des 48 dernières heures^(5,7).

DOSAGE DE LA NICOTINE ET DE SES MÉTABOLITES

La nicotine et ses métabolites peuvent être dosés dans les différents liquides biologiques par des méthodes colorimétriques, immunologiques et chromatographiques^(4, 6, 8-15). Ces différentes méthodes varient en fonction de leur sensibilité permettant ou non l'évaluation du degré d'exposition au tabagisme passif et de leur coût (tableau 1).

Rarement utilisée, la colorimétrie dose globalement l'ensemble des composés nicotinniques; les résultats sont exprimés en équivalent cotinine. Le seuil de sensibilité élevé (1 250 ng/ml) ne permet pas son utilisation pour l'évaluation du tabagisme faible ou occasionnel, ni pour celle du tabagisme passif.

Les différents tests immunologiques varient en fonction de la spécificité des anticorps utilisés: des réactions croisées avec d'autres dérivés de la nicotine, en particulier la 3HC, peuvent représenter un biais. Rapides et simples à réaliser, ils nécessitent toutefois l'utilisation d'un appareillage spécifique et leur sensibilité variable limite leur usage dans l'évaluation du tabagisme passif.

Les **méthodes chromatographiques** sont les plus spécifiques. Leur limite de détection très basse permet de mesurer les concentrations en cotinine observées dans l'urine des sujets expo-

	Colorimétrie	Immunologie	Chromatographie
Milieux biologiques	Urine	Urine	Urine, sérum/plasma, salive...
Analyse directe du milieu biologique	Oui	Oui	Non (extraction préalable)
Spécificité	Nicotine + métabolites	Cotinine (réaction croisée 3HC)	Cotinine, nicotine, 3HC
Évaluation du tabagisme passif	Non	±	Oui
Réalisation de l'analyse	Simple	Simple (appareillage)	Complexe (personnel, appareillage)
Durée de l'analyse	Rapide	Rapide	Longue
Coût	Peu coûteux	Coûteux	Coûteux

Tableau 1 : Méthodes de dosage de la nicotine et de ses métabolites

sés au tabagisme passif, en particulier chez l'enfant. Relativement longue et plus complexe, elles sont la méthode de référence, recommandée pour le dosage de la cotinine urinaire. La standardisation des conditions opératoires permet une comparaison interlaboratoire des résultats obtenus. Il est donc important de connaître la méthode de dosage utilisée et ses caractéristiques afin d'interpréter correctement les résultats

PRÉLÈVEMENTS

Faciles à recueillir, les urines restent le milieu de choix pour le dosage des différents composés nicotiques, en particulier la cotinine. Les taux urinaires sont plus élevés que ceux retrouvés dans la salive et dans le sang pour un même niveau d'exposition. Une relation dose-réponse a été démontrée entre, le niveau et la durée d'exposition, et l'excrétion urinaire de cotinine, avec une corrélation entre la cotininurie de 24 heures et celle mesurée sur les urines du matin. Si le dosage de la cotinine sur les urines de 24 heures est idéal, la mesure de la cotinine

sur un échantillon d'urine recueilli de façon aléatoire, utilisée dans la plupart des études, est un indicateur fiable de l'intensité du tabagisme au niveau individuel⁽⁶⁾.

Les conditions de conservation restent controversées, les urines devant être gardées au frais voire congelées pour certains, stables à température ambiante pour d'autres.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

S'il est difficile de fixer un seuil de positivité, les valeurs suivantes peuvent être proposées :

- < 6 µg/l pour le sujet non fumeur non exposé à la fumée,
 - 6 à 50 µg/l pour le sujet non fumeur exposé à la fumée,
 - 50 à 150 µg/l pour le petit fumeur,
 - 150 à 600 µg/l pour le fumeur,
 - 600 à plus de 5 000 µg/l pour le gros fumeur.
- La nicotine inhalée (mg/24 heures) est égale :
- à la cotinine sanguine (µg/l) x 0.08,
 - à la cotinine urinaire (µg/l) x 0.013 ou
 - à la cotinine salivaire (µg/l) x 0.10⁽⁵⁾. (tableau 2)

RÉSUMÉ

La quantification du degré d'imprégnation aux composants de la fumée de tabac a de nombreuses applications pratiques. Spécifique de cette imprégnation, la nicotine, métabolisée en cotinine, peut être dosée ainsi que ses métabolites dans divers milieux biologiques. Différentes méthodes de dosage ont été développées, permettant la mesure de la concentration globale ou spécifique d'un ou plusieurs métabolites. Ces méthodes varient en sensibilité, en spécificité, en facilité et temps de réalisation, et en coût. Ce dosage prend toute son importance pour le suivi du sevrage tabagique de certains groupes spécifiques tels la femme enceinte ou les patients souffrant d'une pathologie cardio-vasculaire.

Mots clefs : tabac, sevrage, cotinine, nicotine, ntaire, hyménoptères.

La cotinine permet de quantifier le degré d'imprégnation à la nicotine des deux derniers jours.

$$\begin{aligned} \text{Nicotine inhalée (mg/24h)} &= \text{Cotinine urine } (\mu\text{g/l}) \times 0.013 \\ &\quad \text{Cotinine sang } (\mu\text{g/l}) \times 0.08 \\ &\quad \text{Cotinine salive } (\mu\text{g/l}) \times 0.10 \end{aligned}$$

Tableau 2 : Relation entre la nicotine inhalée (correspondant à la posologie initiale de substitution nicotinique) et la concentration en cotinine

La concentration en cotinine mesurée sur un échantillon d'urine permet ainsi de calculer la posologie optimale de la substitution nicotinique initiale pour le fumeur en sevrage. Pour éviter l'influence éventuelle de l'apport hydrique avant le recueil de l'urine, la concentration en cotinine est exprimée par certains auteurs en référence à la créatininurie. Toutefois l'excrétion urinaire de la cotinine mesurée par chromatographie n'est que faiblement corrélée à celle de la créatinine. Cette correction n'apparaît dès lors pas nécessaire^(16, 17).

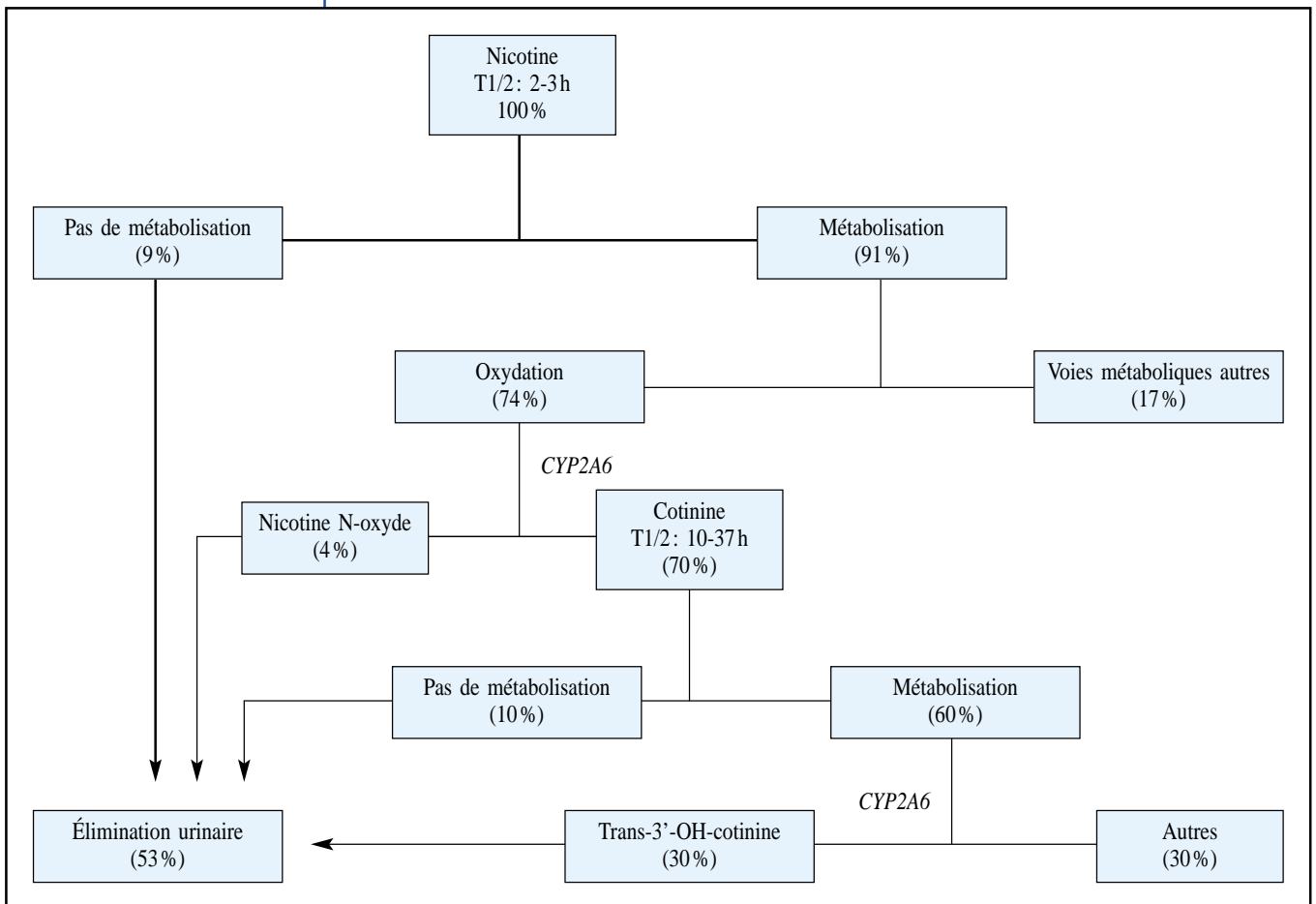
COÛT

Le dosage de la cotinine urinaire n'est pas remboursé par l'INAMI. La participation financière demandée au patient est variable selon la méthode et le laboratoire réalisant ce dosage. À titre d'exemple, un consensus a été établi entre six hôpitaux universitaires pour limiter cette participation à 25 € par dosage via la méthode de référence.

APPLICATIONS

Un marqueur biologique, souvent facteur de motivation supplémentaire à l'arrêt, est particulièrement utile dans l'aide au sevrage tabagique^(1, 4, 18). Si le monoxyde de carbone est classiquement utilisé comme marqueur d'exposition au tabac, il n'en est pas spécifique. Son taux est influencé par l'environnement, par l'état respiratoire du sujet (diminution chez l'insuffisant respiratoire chronique et chez le sujet en hyperventilation après exercice physique) ou par des interférences analytiques. Sa demi-vie courte, de 2 à 5 heures, ne permet une évaluation de l'exposition au tabac que pour les quelques heures précédant la mesure. Facile et peu coûteuse, la mesure du CO dans l'air expiré reflète l'importance de l'inhalation de la fumée de tabac mais ne permet pas l'étude du tabagisme passif^(3, 4). La cotinine, par contre, est un biomarqueur sensible et spécifique de l'exposition à la fumée de tabac. Elle permet de quantifier le degré d'imprégnation à la nicotine des deux derniers jours⁽¹⁾. Son

Figure 1 : Métabolisme de la nicotine



dosage, le plus souvent dans les urines⁽⁶⁾, permet d'adapter par simple calcul la posologie optimale de substitution nicotinique⁽⁵⁾, le taux de substitution devant être aussi proche que possible de 100% pour réduire le syndrome de sevrage. Cette méthode, plus fiable que le nombre de cigarettes fumées ou le taux de CO dans l'air expiré, augmente les chances de succès du sevrage⁽¹⁾. En cours de sevrage, la concentration en cotinine urinaire est un **moyen de suivre le traitement substitutif**. Ces mesures sont particulièrement utiles dans des groupes à risque spécifiques tels la **femme enceinte** ou les patients souffrant d'une pathologie cardio-vasculaire ou chronique (patients diabétiques p. ex)⁽¹⁸⁾.

La cotinurie peut être utilisée pour confirmer le **maintien d'un sevrage tabagique** ou pour distinguer les fumeurs des non fumeurs avec une sensibilité de 96-97% et une spécificité de 99-100%, justifiant sa demande par certaines compagnies d'assurance afin de contrôler les déclarations des candidats à une police d'assurance vie⁽¹⁸⁾.

Le dosage de la cotinine urinaire permet de **surveiller l'exposition des non fumeurs** aux composants de la fumée de tabac, de mettre en place des mesures de protection et d'en vérifier l'efficacité^(4, 18).

Ce dosage présente de l'intérêt dans les **études épidémiologiques** pour lesquelles il est important de valider le statut tabagique. Par exemple les études portant sur l'action toxique des irritants respiratoires professionnels, sur l'exposition professionnelle au CO (surestimée chez les fumeurs) ou sur l'établissement de valeurs limites officielles pour l'exposition aux substances organiques également présentes dans la fumée de tabac^(4, 20).

Lors d'**essais cliniques**, le tabagisme peut influencer les caractéristiques pharmacodynamiques de nombreuses substances thérapeutiques nécessitant le contrôle du statut tabagique des sujets recrutés. Le dosage des marqueurs est également utile lors d'**études cliniques sur les médicaments d'aide au sevrage** pour évaluer l'effet du traitement sur la consommation tabagique et pour vérifier l'arrêt^(4, 18, 21). Enfin, la cotinurie peut servir de **marqueur d'exposition aux autres modes de prise de tabac** (chique, chicha...).

CONCLUSION

Spécifique du tabac, la cotinine, en particulier urinaire, est actuellement le marqueur biologique de choix pour évaluer l'imprégnation nicotinique liée à la consommation tabagique. Différentes méthodes de dosage ont été développées, de sensibilité et de spécificité variables. Le choix de la méthode dépend de l'objectif recherché et du contexte dans lequel est réalisé le dosage. La mesure de la cotinurie est intéressante dans diverses applications cliniques, épi-

démiologiques, de recherche ou de prévention : aide au sevrage tabagique, adaptation de la posologie de substitution nicotinique, étude du tabagisme passif, contrôle du statut tabagique. ■

BIBLIOGRAPHIE

- Lagru G, Philippon C, Lafnoute N, Cormier S et al. Le dosage de la cotinine urinaire : un guide pour l'adaptation posologique du traitement de la dépendance tabagique par la nicotine. *Sem Hôp Paris*. 1994; **70**: 387-90.
- Sepkovic DW, Haley NJ. Biochemical applications of cotinine quantitation in smoking related research. *Am J Public Health*. 1985; **75**: 663-5.
- Jarvis MJ, Tunstall-Pedoe H, Feyerabend C, Vesey C et al. Comparison of tests used to distinguish smokers from nonsmokers. *Am J Public Health*. 1987; **77**: 1435-8.
- Larramendy C, Diviné C, Asnafi-Farhang S, Lagru G. Intérêts des différents marqueurs biologiques dans l'évaluation du tabagisme. *Pathologie Biologie*. 2004; **52**: 164-72.
- Benowitz NL. Cotinine as a biomarker of environmental tobacco smoke exposure. *Epidemiol Rev*. 1996; **18**: 188-4.
- Metz-Favre C, Donnay C, de Blay F. Les marqueurs d'exposition au tabagisme passif. *Rev Mal Respir*. 2005; **22**: 81-92.
- Florek E, Piekoszewski W, Wrzosek J. Relationship between the level and time of exposure to tobacco smoke and urine nicotine and cotinine concentration. *Pol. J. Pharmacol*. 2003; **55**: 97-102.
- Jacob N, Berny C, Boyer JC, Capolaghi B et al. Dosage urinaire de la cotinine et des métabolites de la nicotine. Première partie: Bilan d'une étude analytique pluricentrique et recommandations générales. *Ann Biol Clin*. 2005; **63** (4): 397-409.
- Phillipou G, James SK, Seaborn CJ, Phillips PJ. Assessment of a simple colorimetric procedure to determine smoking status in diabetic subjects. *Clin Chem*. 1994; **40** (7): 1296-8.
- Peach H, Ellard GA, Jenner PJ, Morris RW. A simple, inexpensive urine test of smoking. *Thorax*. 1985; **40**: 351-7.
- Knight GJ, Palomaki GE, Lea DH et al. Exposure to environmental tobacco smoke measured by cotinine 125 I-Radioimmunoassay. *Clin Chem*. 1989; **35** (6): 1036-9.
- Bjercke RJ, Cook G, Rychlik N, Gjika HB et al. Stereospecific monoclonal antibodies to nicotine and cotinine and their use in enzyme-linked immunosorbent assays. *J Immunol Methods*. 1986; **90**: 203-13.
- Galanți LM, Dell'Omio J, Vanbeckbergen D, Dubois P et al. Particle counting immunoassay for urinary cotinine. Comparison with chromatography, enzyme-linked immunoassay and fluorescence polarization immunoassay. *Clin Chem Lab Med*. 1999; **37** (7): 729-34.
- Pok Phak Rop, Grimaldi F, Oddo C, Viala A. Determination of nicotine and its main metabolites in urine by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr*. 1993; **612**: 302-9.
- Moyer TP, Charlson JR, Enger RJ, Dale LC et al. Simultaneous analysis of nicotine, nicotine metabolites and tobacco alkaloids in serum or urine by tandem mass spectrometry, with clinically relevant metabolic profiles. *Clin Chem*. 2002; **48** (9): 1460-71.
- Jacob N, Berny C, Boyer JC, Capolaghi B et al. Dosage de la cotinine urinaire libre. Deuxième partie: Comparaison avec le taux de monoxyde de carbone dans l'air expiré. *Ann Biol Clin*. 2005; **63** (5): 467-73.
- Jatlow P, McKee S, O'Malley SS. Correction of urine cotinine concentrations for creatinine excretion: is it useful? *Clin Chem*. 2003; **49** (11): 1932-4.
- Haufroid V, Lison D. Urinary cotinine as a tobacco-smoke exposure index: a minireview. *Int Arch Occup Environ Health*. 1998; **71**: 162-8.
- Shaw NJ, Mc Clure RJ, Kerr S, Lawton K et al. Smoking in diabetic teenagers. *Diabet Med*. 1993; **10**: 275-7.
- Ong CN, Lee BL, Shi CY, Ong HY et al. Elevated levels of benzene related compounds in the urine of cigarette smokers. *Int J Cancer*. 1994; **59**: 177-80.
- Apseloff G, Ashton HM, Friedman H, Gerber N. The importance of measuring cotinine levels to identify smokers in clinical trials. *Clin Pharmacology & Therapeutics*. 1994; **56**: 460-2.

La concentration en cotinine urinaire est utile à connaître dans certains groupes à risque spécifiques.

EN PRATIQUE, NOUS RETIENDRONS

- En médecine générale, l'utilité d'un dosage de cotinine urinaire est limitée.**
- Les principales indications d'un dosage de la cotinine urinaire sont: la recherche de la dose idéale de substitution nicotinique chez une femme enceinte, chez un patient à haut risque ou présentant une grande dépendance. En cas d'échecs multiples de sevrage, lors de certaines études cliniques ou pharmacologiques, ce dosage peut se justifier.**
- La quantité de nicotine inhalée (mg/ 24 heures) est égale à la concentration en cotinine sanguine (µg/l) x 0.08, en cotinine urinaire (µg/l) x 0.013, la cotinurie permettant l'adaptation optimale de la posologie de substitution nicotinique, augmentant ainsi les chances de succès du sevrage pour certains groupes spécifiques.**

La Rédaction