

Bestemmelse av buprenorfin konsentrasjon i urin

Sammendrag

Buprenorfin er et av legemidlene som brukes til behandling av opiatavhengige i legemiddelassistert rehabilitering. Buprenorfin metaboliseres i leveren ved hjelp av cytokrom P-450 til den aktive metabolitten norbuprenorfin, og videre til buprenorfin-glukuronid og norbuprenorfin-glukuronid. I løpet av de siste årene har vi registrert en betydelig økning av antall saker der det blir rekvirert analyse med henblikk på buprenorfin i urinprøver. Siden august 2005 er alle disse prøvene blitt analysert med en ny metode som analyserer glukuronider av buprenorfin og norbuprenorfin i urin. Den nye metoden er rask og enkel og sparer både tid og ressurser i vår analysedrift.

Oppgitte interessekonflikter: Ingen

Solfrid Hegstad

solfrid.hegstad@fhi.no

Asbjørge S. Christophersen

Hassan Z. Khiabani

Nasjonalt folkehelseinstitutt

Divisjon for retts toksikologi

og rusmiddelforskning

Postboks 4404 Nydalen

0403 Oslo

Det er estimert at 12 000–15 000 personer i Norge er sprøytenarkomane. Legemiddelassistert rehabilitering ble et landsomfattende behandlingstilbud i 1988 (1), nå er ca. 4 200 heroinavhengige under behandling. Det antas at 7 000 pasienter har behov for behandling. Metadon er en langt virkende μ -opioidreseptoragonist og var det første legemidlet som ble brukt til legemiddelassistert rehabilitering. På grunn av negative effekter ved bruk av metadon, bl.a. overdosedødsfall og tilleggsbruk, også kalt sidemisbruk, har buprenorfin fått stadig bredere plass i behandlingen (2–4). Buprenorfin er både partiell μ -opioidreseptoragonist og κ -opioidreseptorantagonist. Disse egenskapene fører til at buprenorfins effekt er mindre enn effektene av fulle agonister, som for eksempel metadon. Dette kan igjen føre til at faren for overdose blir mindre. Buprenorfin

metaboliseres i leveren av cytokrom P-450-enzymet, primært av CYP3A4 (ca. 65 %) og CYP2C8 (ca. 30 %), til den aktive metabolitten norbuprenorfin (5, 6) og videre til norbuprenorfin-glukuronid (fig 1). Imidlertid omdannes også en mindre del direkte til buprenorfin-glukuronid før utskilling.

Divisjon for retts toksikologi og rusmiddelforskning ved Nasjonalt folkehelseinstitutt mottar over 5 000 urinprøver årlig fra fengsler, barnevern, yrkesliv og sykehus for analyse av legemidler og/eller rusmidler. Avhengig av rekvirentens ønsker, analyseres de fleste prøver rutinemessig i et standardprogram som omfatter de vanligste rusmidler og/eller legemidler. Bestemmelse av buprenorfin konsentrasjon i urin kan si noe om bruk og/eller misbruk og kan brukes for monitorering under et behandlingsopplegg. Hensikten med denne artikkelen er å gi en oversikt over våre rutiner for analyse av buprenorfinnivå i urin og utfordringer som ligger i fortolkning av analysefunnene.

Analysemetoder

Begrensninger i bruken av svar fra analyser som blir utført på en rekke sykehus, faller inn under Rundskriv IS-13/2002 fra Sosial- og helsedirektoratet (7). Analysesvaret kan verken brukes i rettslige sammenhenger eller i tilfeller hvor resultatene kan føre til negative sanksjoner. Årsaken kan være at prøvesikringskjeden ikke i tilstrekkelig grad er ivarettatt, at analyseresultatene i de fleste tilfeller bare er basert på en screeninganalyse, f.eks. immunologiske metoder, samt at metoden ikke er tilstrekkelig spesifikk eller kvalitetskontrollert. Prøvebehandling og analyser utført hos oss er i overensstemmelse med Sosial- og helsedirektoratet, jfr. Rundskriv IS-14/2002 (8). Dette betyr at bak alle våre positive analysesvar ligger to uavhengige uttak og bruk av to forskjellige metoder, dvs. at alle positive resultater fra screeninganalysen er bekreftet i et nytt prøveuttak med en annen analysemetode. En detaljert beskrivelse av prøver tatt i medisinsk sammenheng versus retts toksikologiske prøver eller andre prøver med mulige negative sanksjoner er nærmere omtalt av Castberg & Sandvik (9).

For screening av buprenorfin i urin benyttes den immunologiske testen CEDIA (Cloned Enzyme Donor Immuno Assay, Microgenics GmbH, Passau, Germany) der CEDIA-reagenset kryssreagerer hovedsakelig med buprenorfin-glukuronid. Denne metoden har høy sensitivitet, men lav spesifisitet. På pakningsvedlegg fra produsenten

oppgis det at reagenset også kryssreagerer med bl.a. kodein. Dette fører til at inntak av kodein kan gi falskt positive resultater.

Som bekreftelsesmetode anvendes analyseteknologi som væske kromatografi med massespektrometri eller gasskromatografi med massespektrometri. Denne teknologien er både sensitiv og spesifikk. Bestemmelse av konsentrasjonen av buprenorfin i urin er tidligere i mange år blitt utført med gasskromatografi med massespektrometri. Metoden som måler den totale mengde buprenorfin og norbuprenorfin, består av flere tidkrevende trinn. I metoden inngår hydrolyse (bindingen mellom buprenorfin og glukuronid brytes), ekstrahering (rensing/oppkonsentrering) og derivatisering (kobling til et reagens som øker flytigheten) (10–12).

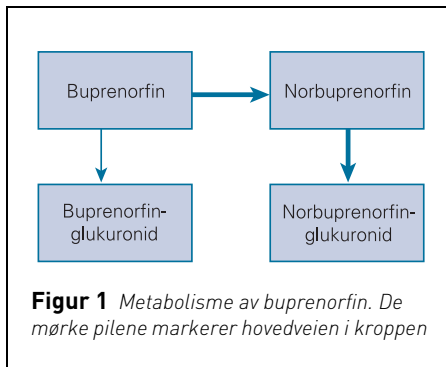
Siden buprenorfin hovedsakelig skilles ut som glukuronider i urin, var det derfor ønskelig å utvikle en ny og enklere metode der disse måles direkte. Dette er muliggjort i de senere år bl.a. fordi renstoffer av glukuronidene er blitt kommersielt tilgjengelig. I den nye metoden som er enkel og tidsbesparende, fortynnes og filtreres prøven før væske kromatografi med massespektrometrisk analyse. Metoden er validert og publisert (14).

Fortolkning og diskusjon

Våre prøver kommer for det meste fra personer som behandles med buprenorfin for sitt

Hovedbudskap

- Buprenorfin er både en partiell μ -opioidreseptor- og en κ -opioidreseptorantagonist og brukes i legemiddelassistert rehabilitering
- Buprenorfin metaboliseres i kroppen til norbuprenorfin, buprenorfin-glukuronid og norbuprenorfin-glukuronid
- Konsentrasjonsbestemmelsen av buprenorfin-glukuronid og norbuprenorfin-glukuronid i urin er rask og enkel og sparer både tid og ressurser
- Falskt positive resultater fra den immunologiske screeninganalysen kan avkreftes i et nytt prøveuttak med vår nye analysemetode
- Med vår nye analysemetode vil prøven være negativ dersom buprenorfin er tilsatt i urinprøve in vitro



rusmisbruk der rekvirenten ønsker å vite om buprenorfin er inntatt. I andre tilfeller utføres analysen for ev. å avdekke et illegalt inntak av buprenorfin. I enkelte saker brukes den målte verdien av buprenorfin til å finne ut om det har vært et nytt inntak. Dette gjelder spesielt i prøver fra kriminalomsorgen hvor det ikke finnes noen opplysninger om lovlig bruk. Ifølge vår standardprosedyre rapporteres svaret for urinprøver aldri med et kvantitativt resultat, prøvesvaret rapporteres enten som «positiv» eller «negativ». Når prøven blir positiv, fortolkes prøvesvaret før utsendelse til rekvirenten. For fortolkning av analyseresultatene er det viktig å huske at innsendte urinprøver ikke er «standard urin». Det betyr bl.a. at prøvene ikke er tatt på samme tidspunkt på dagen, og dermed er det viktig at prøvesvaret korrigeres med den målte kreatininverdien for hver prøve. På den måten kan prøvesvarene sammenliknes med hverandre og fortolkes ytterligere.

I bekreftelsesmetoden er prøven bare positiv dersom buprenorfin-glukuronid er påvist. Norbuprenorfin-glukuronid brukes som en ekstra sikkerhet for identitet. I urin skilles det i hovedsak ut glukuronider av buprenorfin og norbuprenorfin (15). I vår nye bekreftelsesmetode måles kun glukuronidert buprenorfin og norbuprenorfin. Dette kan føre til at prøver som er positive for norbuprenorfin, men negative for glukuronider, ikke vil bli bekreftet positivt med vår nye metode.

Screeningreagenset kryssreagerer imidlertid i liten grad med norbuprenorfin, og slike prøver vil uansett bli screenet negative. En annen faktor det er viktig å nevne i denne sammenhengen, er når det er mistanke om at buprenorfin er tilsatt urinprøven in vitro (manipulering). Med vår nye metode som måler buprenorfin-glukuronid og norbuprenorfin-glukuronid vil analyseresultatene være negative. En slik manipulering vil dermed ikke kunne påvirke utfallet. Vår tidligere analysemetode som analyserte modersubstansen kunne ikke oppdage dette.

I alle prøver som ble screenet positive med immunologisk metode mellom høsten 2005 og til nå (19.6. 2007) var det ca. 13 % som ble bekreftet negative med den nye metoden. Halvparten av disse sakene viste seg å være positive for kodein. Siden kodein er en substans som er mye brukt i befolkningen, kan faren for falskt positive resultater øke i laboratorier der bare immunologiske metoder benyttes. Dette viser at det er viktig at positive resultater fra screeninganalysen bekreftes i et nytt prøveuttak med en annen og mer spesifikk analysemetode.

I de siste årene er det blitt registrert en vesentlig økning av antall prøver der vi blir spurt om å analysere buprenorfin-konsentrasjonen. Fra 2001 til 2006 økte antall prøver som ble analysert for buprenorfin fra 300 i 2001 til 1 600 i 2006. Siden august 2005 har vi analysert (ca. 2 400 prøver) med henblikk på buprenorfin med den nye metoden. Den er rask og enkel og sparer både tid og ressurser i vår analysevirksomhet. Dette har ført til vesentlig redusert svartid for prøver med spørsmål om buprenorfin analyse.

Litteratur

- Krook AL, Brors O, Dahlberg J et al. A placebo-controlled study of high dose buprenorphine in opiate dependents waiting for medication-assisted rehabilitation in Oslo, Norway. *Addiction* 2002; 97: 533–42.
- Kornor H, Waal H, Sandvik L. Time-limited buprenorphine replacement therapy for opioid dependence: 2-year follow-up outcomes in relation to programme completion and current agonist therapy status. *Drug Alcohol Rev* 2007; 26: 135–41.
- Kristensen O, Espegren O, Asland R et al. Buprenorphin og metadon til opiatavhengige en randomisert studie. *Tidsskr Nor Lægeforen* 2005; 125: 148–51.
- Bramness JG, Bachs LC, Waal H. Buprenorphin i legemiddelassistert rehabilitering av heroinavhengige. *Tidsskr Nor Lægeforen* 2002; 122: 2452–4.
- Cone EJ, Gorodetzky CW, Yousefnejad D et al. The metabolism and excretion of buprenorphine in humans. *Drug Metab Dispos* 1984; 12: 577–81.
- Huang P, Kehner GB, Cowan A et al. Comparison of pharmacological activities of buprenorphine and norbuprenorphine: norbuprenorphine is a potent opioid agonist. *J Pharmacol Exp Ther* 2001; 297: 688–95.
- Kvalitetsrutiner ved rusmiddeltesting av prøver i medisinsk sammenheng (behandling og diagnostikk). http://www.shdir.no/vp/multimedia/archive/00001/IS-13_2002_1151a.pdf [28.11.2007].
- Kvalitetskrav til rutiner for rusmiddeltesting, hvor positivt analysesvar kan danne grunnlag for iverksetting av alvorlige sanksjoner http://www.shdir.no/vp/multimedia/archive/00001/IS-14_2002_1153a.pdf [28.11.2007].
- Castberg I, Sandvik P. Prøvetaking ved rusmiddeltesting i urin. *Tidsskr Nor Lægeforen* 2005; 125: 293–4.
- George S, George C, Chauhan M. The development and application of a rapid gas chromatography-mass spectrometry method to monitor buprenorphine withdrawal protocols. *Forensic Sci Int* 2004; 143: 121–5.
- Vincent F, Bessard J, Vacheron J et al. Determination of buprenorphine and norbuprenorphine in urine and hair by gas chromatography-mass spectrometry. *J Anal Toxicol* 1999; 23: 270–9.
- Feng S, Elsohly MA, Duckworth DT. Hydrolysis of conjugated metabolites of buprenorphine. I. The quantitative enzymatic hydrolysis of buprenorphine-3-beta-D-glucuronide in human urine. *J Anal Toxicol* 2001; 25: 589–93.
- Elsohly MA, Gul W, Feng S et al. Hydrolysis of conjugated metabolites of buprenorphine II. The quantitative enzymatic hydrolysis of norbuprenorphine-3-beta-D-glucuronide in human urine. *J Anal Toxicol* 2005; 29: 570–3.
- Hegstad S, Khababani HZ et al. Rapid quantification of buprenorphine-glucuronide and norbuprenorphine-glucuronide in human urine by LC-MS-MS. *J Anal Toxicol* 2007; 31: 214–9.
- Huang W, Moody DE, McCance-Katz EF. The in vivo glucuronidation of buprenorphine and norbuprenorphine determined by liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry. *Ther Drug Monit* 2006; 28: 245–51.

Manuskriptet ble mottatt 19.6. 2007 og godkjent 31.10. 2007. Medisinsk redaktør Jens Bjørheim.