

## Interferenza da prometazina nella determinazione del metadone urinario con metodo a interazione cinetica di microparticelle in soluzione

Lucio Marchioro<sup>1</sup>, Paola Pezzati<sup>2</sup>, Silvia Ponchia<sup>1</sup>, Anna Tommasi<sup>1</sup>, Francesco Dall'Acqua<sup>3</sup>, Mario Plebani<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera, Università degli Studi di Padova

<sup>2</sup>Laboratorio di Sanità Pubblica e Tossicologia Occupazionale e Ambientale (ASL 10), Firenze

<sup>3</sup>Istituto di Farmacia, Università degli Studi di Padova

Caro Editore,

in seguito al trattamento farmacologico con prometazina (Farganesse<sup>®</sup>, Pharmacia) abbiamo osservato una possibile interferenza da cross-reattività di questo farmaco con la determinazione del metadone urinario con metodo a interazione cinetica di microparticelle in soluzione (KIMS). Abbiamo quindi verificato questa ipotesi, estendendola anche alla determinazione della cocaina con lo stesso metodo KIMS e in questa breve comunicazione riportiamo i risultati. La prometazina, un antistaminico della classe delle fenotiazine, può essere somministrata come sedativo in sostituzione dei derivati benzodiazepinici in quanto non provoca, a differenza di questi ultimi, il fenomeno dell'assuefazione. Tale farmaco può assumere importante valore terapeutico in caso di intossicazione acuta da cocaina, e la sua azione si esplica a livello del sistema nervoso centrale, del sistema nervoso autonomo e del sistema endocrino. Queste azioni vengono correlate al blocco di numerosi recettori, quali gli  $\alpha$ -adrenorecettori ed i recettori muscarinici, istaminici H1, serotoninergici e dopaminergici.

La raccolta dei campioni di urina è avvenuta presso il Laboratorio di Sanità Pubblica e Tossicologia Occupazionale e Ambientale della ASL n°10 di Firenze e presso il Servizio di Medicina di Laboratorio dell'Azienda Ospedaliera di Padova, utilizzando volumi residui di campioni pervenuti in laboratorio per la determinazione delle droghe d'abuso. Il primo laboratorio ha selezionato 13 campioni di soggetti tossicodipendenti, trattati (n=5) e non trattati (n=8) con prometazina, risultati positivi per metadone e cocaina al test di screening urinario. Il secondo laboratorio ha selezionato campioni di urina da 10 soggetti tossicodipendenti, non in trattamento con prometazina, utilizzati come gruppo di controllo. Di questi, 5 erano positivi a metadone e cocaina con concentrazioni comprese tra 300 e 1500  $\mu\text{g/L}$  e 5 erano negativi per entrambe le sostanze. Ai campioni così selezionati, con l'esclusione dei 5 soggetti in trattamento col farmaco, era applicato uno schema di aggiunta in vitro di prometazina, che prevedeva il raggiungimento delle concentrazioni finali di 0,1  $\mu\text{g/L}$ , 0,2  $\mu\text{g/L}$  e 0,5  $\mu\text{g/L}$ . Su tali aliquote erano eseguite nei due laboratori di Firenze e Padova le determinazioni di metadone e cocaina utilizzando i metodi Metadone II e Cocaina II (Roche Diagnostics), con un livello decisionale di 300  $\mu\text{g/L}$  per entrambe le sostanze. Tali metodi si basano sull'interazione cinetica in soluzione tra gli anticorpi specifici anti-sostanza d'abuso e microparticelle coniugate con la stessa sostanza, misurata come variazione dell'estinzione della soluzione in esame, rilevabile con misura spettrofotometrica a 505 nm (1). Se l'analita non è presente nel campione, l'anticorpo libero si lega all'antigene coniugato con le microparticelle provocando la formazione di aggregati di particelle con aumento dell'assorbanza. Se, invece, il campione di urina contiene la sostanza ricercata, tale sostanza competerà per l'anticorpo libero con il suo derivato, coniugato con le microparticelle. L'anticorpo legato all'analita non sarà più a disposizione per provocare l'aggregazione e pertanto la formazione del reticolo di microparticelle risulterà inibita. La presenza della sostanza d'abuso nel campione di urina provocherà quindi una diminuzione dell'assorbanza proporzionale alla concentrazione di analita presente. Questa metodologia era impiegata in due differenti strumentazioni analitiche, Hitachi 912 (Roche Diagnostics) presso il laboratorio di Padova, e Cobas Integra 800 Plus (Roche Diagnostics) in dotazione al laboratorio di Firenze. Va sottolineato che nelle note informative contenute nell'inserito illustrativo dei metodi viene riportata una cross-reattività non superiore allo 0,2% per concentrazioni di prometazina >100.000  $\mu\text{g/L}$ .

Con entrambi i sistemi analitici erano ottenuti risultati sovrapponibili, sia per il metadone che per la cocaina. Nei campioni selezionati da soggetti in trattamento con prometazina non erano riscontrate false positività dei risultati di metadone e cocaina. Anche nei campioni selezionati da soggetti risultati positivi a metadone e cocaina che non assumevano prometazina, l'aggiunta del farmaco in vitro non mostrava effetti evidenti sui risultati ottenuti (Tabella 1). In particolare, le differenze riscontrate nei risultati rimanevano entro i limiti di imprecisione dei metodi che nella nostra esperienza si collocano ad un CV medio pari a 2,65% per il metadone e a 1,47% per la cocaina. Nell'ambito dei campioni selezionati da soggetti risultati negativi a metadone e cocaina, non in trattamento con prometazina, erano invece ottenuti dei risultati imputabili ad una possibile interferenza. Come rappresentato nella Figura 1, era notato un progressivo aumento della risposta al metadone dopo l'aggiunta di prometazina. Considerando il valore medio sui cin-

**Tabella 1**

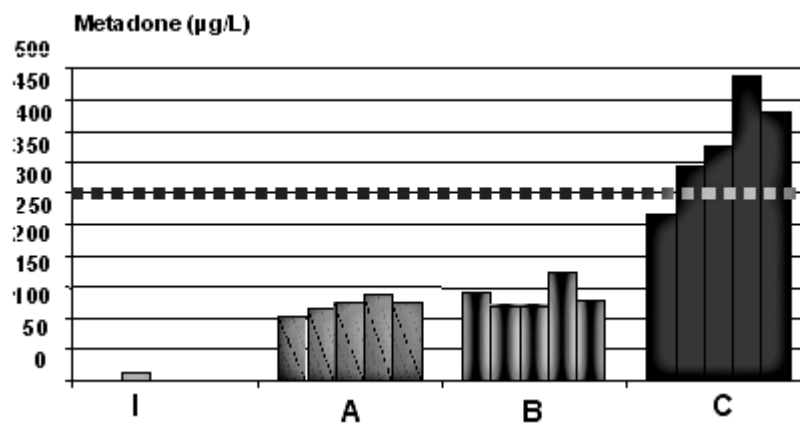
Risultati ottenuti nei campioni positivi a metadone e cocaina (soggetti non trattati con prometazina) e nei materiali di controllo utilizzati dopo aggiunta "in vitro" di prometazina alle concentrazioni indicate

METADONE ( $\mu\text{g/L}$ )								
Campione	Risultato basale Hitachi 912	A	B	C	Risultato basale Integra 800	A	B	C
1	1187	1193	1161	1156	1338	1358	1393	1358
2	967	1016	912	1148	1087	1063	1126	1372
3	844	843	817	989	920	948	946	1211
4	955	907	1010	1108	1087	1092	1077	1309
5	1502	1334	1383	1502	1742	1666	1597	1767
N-Control	8	107	197	420	-	-	-	-
S1-Control	227	311	411	538	-	-	-	-
S2-Control	372	445	508	579	-	-	-	-

COCAINA ( $\mu\text{g/L}$ )								
Campione	Risultato basale Hitachi 912	A	B	C	Risultato basale Integra 800	A	B	C
6	1165	1193	1148	1252	1091	1052	856	1051
7	293	301	305	336	284	281	276	280
8	338	346	340	359	339	328	330	314
9	503	532	520	569	459	484	471	470
10	960	991	965	973	882	856	857	843

A: campione + 0.1  $\mu\text{g/L}$  prometazina; B: campione + 0.2  $\mu\text{g/L}$  prometazina; C: campione + 0.5  $\mu\text{g/L}$  prometazina



I: campioni immo modificati; A: + 0.1  $\mu\text{g/L}$  prometazina; B: + 0.2  $\mu\text{g/L}$  prometazina; C: + 0.5  $\mu\text{g/L}$  prometazina

**Figura 1**

Risultati della determinazione del metadone ottenuti nei campioni negativi a metadone e cocaina (soggetti non trattati con prometazina) dopo aggiunta "in vitro" di prometazina alle concentrazioni indicate. La linea tratteggiata indica il livello decisionale utilizzato per il metadone (300  $\mu\text{g/L}$ ).

que campioni, analizzati con l'analizzatore Hitachi 912, le concentrazioni ottenute per il metadone erano: 121  $\mu\text{g/L}$  (+0,1  $\mu\text{g/L}$  di prometazina), 136  $\mu\text{g/L}$  (+0,2  $\mu\text{g/L}$  di prometazina) e 382  $\mu\text{g/L}$  (+0,5  $\mu\text{g/L}$  di prometazina). In particolare, l'aggiunta di 0,5  $\mu\text{g/L}$  di prometazina generava risultati di metadone superiori al livello decisionale di 300  $\mu\text{g/L}$  in 4 campioni su 5. Nessuna interferenza era invece dimostrata sul dosaggio della cocaina. L'eventuale interferenza di prometazina era anche verificata utilizzando tre materiali di controllo (Liquichek™, Biorad) uno negativo (N – Negative Control) e due positivi (S1 - low opiate, con concentrazione media di metadone pari a 225  $\mu\text{g/L}$  e S2 – low opiate, con concentrazione media di metadone pari a 375  $\mu\text{g/L}$ ), ai quali era aggiunto il farmaco con le stesse moda-

lità dei campioni di urina illustrate precedentemente. Similmente ai risultati mostrati nella Figura 1, si evidenziava un incremento delle concentrazioni del metadone misurato per concentrazioni aumentate di prometazina aggiunta (Tabella 1), con marcati scostamenti dal valore target già con un'aggiunta di prometazina di 0,1 µg/L.

La dose giornaliera consigliata di prometazina come farmaco antiistaminico per uso sistemico è di 25-50 mg, mentre dieci volte inferiore risulta la dose serale (2,5-5,0 mg) per ottenere un effetto ipnotico sedativo. La sua emivita varia da 4 a 8 ore e solo il 10-20% del farmaco viene escreto immodificato con le urine (2). Considerando una diuresi media di 1,5 L/24 h, la concentrazione media prevedibile in un campione di urina risulta di 1,7 mg/L/24 h in caso di impiego come istaminico e 0,17 mg/L/24 h in caso di uso come ipnotico-sedativo. Siamo perciò convinti che il fenomeno descritto possa essere di utile rilevanza nella pratica quotidiana. Una somministrazione a dosi elevate di prometazina potrebbe infatti causare dei risultati dubbi o falsamente positivi nella determinazione del metadone urinario con metodo KIMS. Al contrario, il nostro studio non mostrava alcuna interferenza analitica in seguito all'aggiunta di prometazina su campioni di urina contenenti elevate concentrazioni di metadone.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Rouse S, Motter K, McNally A, et al. An Abuscreen® OnLine™ immunoassay for the detection of amphetamine in urine on the Cobas Mira automated analyzer. *Clin Chem* 1991;37:995.
2. William DA, Lemke TL. Foye's principi di chimica farmaceutica. Padova: Piccin Nuova Libreria, 2004.