

Excrétion de l'acide 11-nor- Δ^9 -tétrahydrocannabinol-9-carboxylique chez les fumeurs expérimentaux. Durée de détection dans l'urine

T. Vu Duc, A. Vernay, C. Cloux

Institut universitaire de médecine du travail et d'hygiène industrielle. Unité Analyse de drogues
Route de la Clochette, CH-1052 Le Mont sur Lausanne

Introduction et but du travail

L'injection intraveineuse de Δ^9 -tétrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) marqué au ^{14}C à 2 groupes de volontaires, fumeurs réguliers et expérimentaux de marijuana, a montré que l'excrétion des métabolites polaires dans l'urine s'étend au-delà d'une semaine chez les sujets des 2 groupes [1]. Entre temps, le modèle métabolique général a pu être établi graduellement et l'acide 11-nor- Δ^9 -tétrahydrocannabinol-9-carboxylique glucuroconjugué (Δ^9 -THC acide) a été identifié comme étant le métabolite majeur éliminé dans l'urine humaine à côté d'autres formes en plus faible concentration comme l'hydroxy- Δ^9 -THC [2].

Le test immuno-enzymatique "EMIT^R cannabinoid assay" [3] est souvent utilisé comme moyen de dépistage de la consommation de cannabis sur des échantillons d'urine pris au hasard. Il est rapide à effectuer et est très sensible (20 ng/ml). Chez les fumeurs réguliers de marijuana, le test a mis en évidence la présence des métabolites des cannabis dans leurs urines jusqu'à au moins 4 jours et même bien au-delà, jusqu'à 10 jours suivant les individus [3]. Cette élimination lente s'explique par le fait que le Δ^9 -THC étant peu polaire est retenu dans les graisses et les tissus pulmonaires.

Le test immuno-enzymatique de dépistage des cannabis peut être utile dans une étude épidémiologique. Mais il est important de connaître son applicabilité dans un screening au hasard vis-à-vis des fumeurs occasionnels. Le but du travail est de déterminer la limite du procédé et sa validité en tant que moyen objectif de screening de population ou de groupes exposés. Subsidièrement il permet de se rendre compte du métabolisme du Δ^9 -THC chez des fumeurs expérimentaux et de comparer les comportements métaboliques des deux groupes.

Méthode

Groupe de volontaires: le groupe des fumeurs expérimentaux est composé de 8 personnes des deux sexes (H et F) de 23 à 45 ans. Deux d'entre eux (HBG et HAZ) sont fu-

meurs de tabac (25 cig/jour). Tous font l'expérience de la marijuana pour la première fois, au regard de ce travail.

Cigarettes calibrées: des portions de 510 mg de résine cannabis (ONC 351), gracieusement offerte par la Division des stupéfiants des Nations-Unies, ont été pesées. La résine est mélangée à du tabac et le tout est enroulé dans du papier cigarette (longueur 7 cm) avec un appareil du commerce destiné à cet usage. On évite de déposer la résine aux 2 extrémités car l'une (0,5 cm) sert à allumer la cigarette et l'autre (1,5 cm) à la tenir entre les lèvres. Auparavant la teneur en Δ^9 -THC a été déterminée par chromatographie en phase gazeuse. Les cigarettes calibrées contiennent 9 mg de Δ^9 -THC. Cette dose a été choisie dans l'étude sur des fumeurs réguliers (plusieurs cigarettes consommées par semaine).

Protocole de fumage: chaque volontaire tire des bouffées d'environ 3 sec. et inhale la fumée normalement. La fréquence entre chaque bouffée est laissée à l'appréciation des fumeurs mais est inférieure à la min. La durée du fumage est de l'ordre de 20 min.

Les deux volontaires HBG et HAZ ont aussi fumé deux cigarettes de cannabis, de telle sorte que la fin de la 2ème cigarette corresponde au temps $t = 2$ h. Ces conditions sont exactement les mêmes que celles de l'étude citée dans la référence 3, entreprise avec des fumeurs réguliers.

Collection des urines: avant le fumage une urine "blanc" est recueillie, puis toutes les mictions suivantes pendant 6 à 7 jours. On s'arrange pour avoir des mictions pendant les 1ères heures à partir du début du fumage ($t=0$). Les urines sont conservées au congélateur à -30°C .

Analyse: pour les détails sur le procédé "EMIT^R cannabinoid assay" se référer aux indications du fabricant. L'instrument de mesure est un spectrophotomètre Gilford Stasar III avec microprocesseur (système 101) et pipetage automatique. Les échantillons sont analysés de

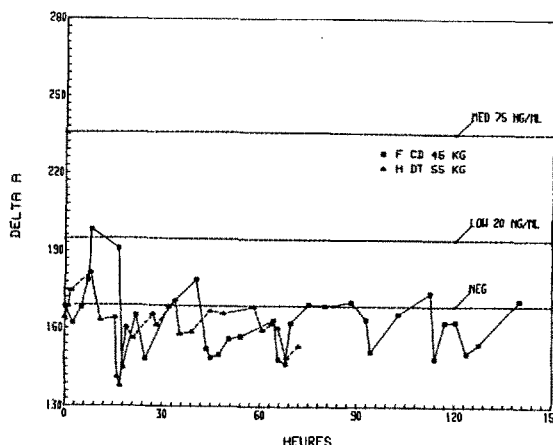
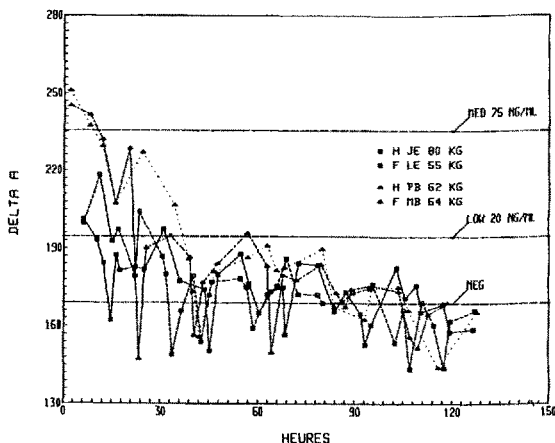


Fig. 1 et 2: Élimination chez les fumeurs expérimentaux. Fumage d'une cigarette de résine cannabis

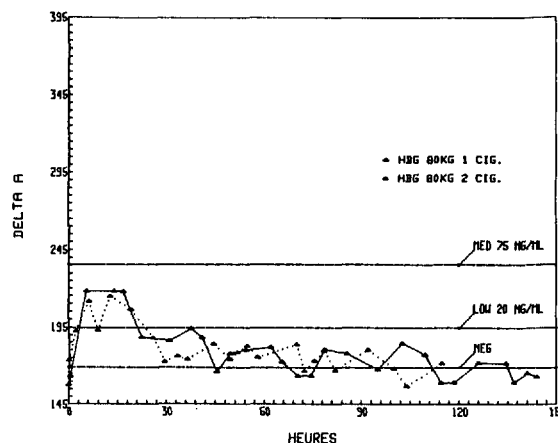
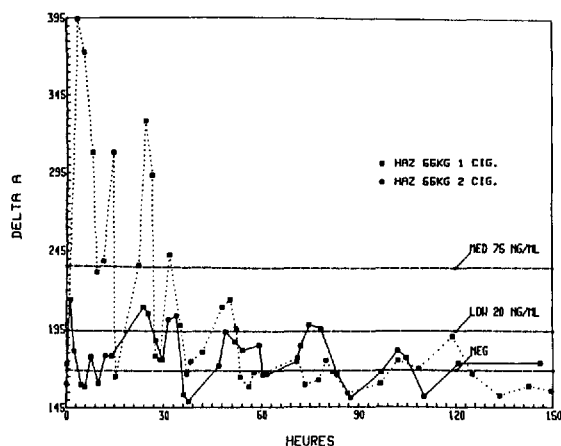


Fig. 3 et 4: Elimination chez les fumeurs expérimentaux. Fumage de 2 cigarettes de résine cannabis

façon groupée par rapport à un même étalon dès la fin de la période de prélèvement. Les urines concentrées à plus de 75 ng sont diluées en conséquence. La créatinine a aussi été déterminée par la méthode de Jaffé en chaîne automatique.

Résultats et discussion

Sur les figures 1 à 4 sont reportés en abscisse le temps écoulé depuis le début du fumage et en ordonné les absorbances ΔA des échantillons d'urine avec les valeurs délimitant les seuils positifs à 20 ng et 75 ng d'équivalent Δ⁹-THC acide par ml d'urine. La mise à zéro du spectrophotomètre est faite par rapport à l'eau distillée et la ΔA d'une urine standard négative est reportée comme repère.

Normalement toute ΔA supérieure à 20 ng/ml corespond à une présence de cannabis avec un seuil de signification à 95 % de fréquence d'apparition. Les ΔA inférieures à 20 ng ne sont pas significatives d'une présence de cannabis mais cette zone d'incertitude entre le "low" et le "neg" (cf figures) sert à suivre l'excrétion du Δ⁹-THC acide. Dans les zones supérieures à 20 ng, les données obtenues sont fiables.

Chez les fumeurs expérimentaux qui ont fumé 1 et 2 cigarettes de résine cannabis, malgré l'incertitude précédente, il se dessine une tendance qui rejoint les observations faites avec des techniques plus spécifiques, à savoir que l'excrétion des métabolites du Δ⁹-THC se déroule lentement sur plus de 5 jours. Le pic d'excrétion est entre 2 et 7 h avec une élimination rapide pendant les 30 premières heures.

Les graphiques montrent une grande variabilité individuelle et interindividu tant au niveau des pics d'excrétion que des concentrations relatives. Les différences d'intensité traduisent les différences d'absorption. HDT n'atteint à aucun moment le seuil des 20 ng et FCD à peine une fois. HBG n'a pas le même comportement que HAZ. Les influences de la masse musculaire, du rapport taille - poids et de l'habitude de fumer du tabac (augmentation du métabolisme) ne ressortent pas. Chez le fumeur expérimental de cannabis, le pic d'excrétion peut aussi demeurer haut (supérieur à 75 ng/ml) pendant plus de 24 h.

La comparaison avec les fumeurs réguliers montrent que ceux-ci ont en général des valeurs basales de métabolites urinaires qui dépassent les valeurs de pics d'excrétion atteints par les fumeurs expérimentaux ou occasionnels. Une consommation de cannabis chez les fumeurs réguliers est encore détectable après 4-5 jours par le procédé EMIT^R cannabinoid assay. Par contre la détection est plus aléatoire au-delà de 48 h chez les fumeurs expérimentaux ou occasionnels. Une constatation importante est le fait qu'un fumeur détecté négativement à un moment donné se remet à excréter les métabolites à

des niveaux positifs. Ces négatifs entre 2 positifs surviennent sans que la créatinine des urines soit anormalement basse. Les résultats ont une conséquence sur l'utilisation du test immuno-enzymatique pour le screening au hasard des populations ou des groupes exposés.

Zusammenfassung: Ausscheidung von 11-Nor-Δ⁹tetrahydrocannabinol-9-carbonsäure im Urin experimenteller Raucher. Zeitabhängige Bestimmung mittels EMIT^R cannabinoid assay.

Cannabis Zigaretten vergleichbarer Stärk wurden von experimentellen Probanden geraucht. Des Ausscheidungsmaximum zwischen 2 bis 7 Stunden folgt eine rasche Abnahme während den ersten 30 Std. und eine langsame Elimination während 5 Tage. Individuelle sowie Interprobanden Schwankungen wurden festgestellt. Der Test kann mit zulässiger Sicherheit auf gelegentlichen Cannabiskonsum nicht länger als 36 bis 48 Std. aufweisen. Negativ erscheinende Konsumenten können plötzlich Metabolite in positiven Mengen ausscheiden. Beim Einsatz des Tests zum Screening exponierter Gruppen in epidemiologischen Untersuchungen müssen diese Befunde berücksichtigt werden.

Summary: Urinary excretion of 11-nor-Δ⁹tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid by experimental smokers. Time course detection by EMIT^R cannabinoid assay.

Cannabis cigarettes of comparable potency were smoked by experimental smokers. Peak excretion occurs between 2 to 7 hours and falls rapidly in the first 30 hours period. Elimination then goes on slowly over 5 days. Individual and interindividual variations are observed. The test can detect occasional use of cannabis no longer than 36 h to 48 h with good probability. Negative detected user can suddenly excrete metabolites to positive levels. This has a consequence on the use of the test to screen exposed group for epidemiologic studies.

Bibliographie

- [1] Lemberger L., Tamarkin N.R., Axelrod J. and Kopin I.J.: Delta-9-tetrahydrocannabinol: metabolism and disposition in long-term marihuana smokers. *Sciences* 173, 72-73 (1971); *ibid* 170, 1320-1322 (1970)
- [2] Hawks R.L.: The constituents of cannabis and the disposition and metabolism of cannabinoids p.125-137. In *The analysis of cannabinoids in biol. fluids*, Research Monogr.42.Nat.Inst. on Drug Abuse 1982
- [3] Clark S., Turner J. and Bastiani R.: EMIT^R cannabinoid assay. Clinical study No 74, Summary report. Syva Co, Palo Alto, CA, USA. 1980