



LABORATORIEANALYSER

Testning er en krævende disciplin med store tolkningsproblemer
- rekvirenter bør være bevidste om både kvalitet og fejlkilder.

AF TORBEN BREINDAHL

Brugen af misbrugsanalyser til påvisning af stofmisbrug og som kontrol under behandlingen af misbrugere er en kontroversiel sag. Området forvaltes uden særlig lovgivning eller anbefalinger for analysekvalitet og metodik, både når analyserne udføres i og uden for det danske sundhedsvæsen. I stor udstrækning benyttes hurtigtests, som kan være upålidelige og have mange begrænsninger, når analyseresultatet skal fortolkes. Desuden er flere vidt forskellige faggrupper involveret, og kommunikationen

mellem disse kan være problematisk. I sundhedsvæsenet, nærmere betegnet hos de klinisk biokemiske afdelinger, som har ansvaret for laboratorieanalyser til sygehuse og store dele af praksissektoren, er der ikke konsensus vedr. udførelsen af narkotikaanalyser. Hele området viser behov for en fokusering på bedre viden om analyserne og øget kvalitetsbevidsthed.

I det følgende gennemgås den faglige baggrund og hovedprincipperne for analysernes udførelse samt vigtige fejlkilder, og hvordan de skal undgås. Der gives også eksempler på de områder, hvor mis-

brugstestning er fordelagtigt, samt områder, hvor det er problematisk eller ligefrem nyttesløst.

Historisk baggrund

Misbrugstestning startede i USA i slutningen af 1980'erne, hvor en ny lovgivning gjorde det legalt at teste ansatte ved f.eks. militær og politi, transportvæsenet og sundhedssektoren. En teknologi baseret på antistoffer blev udviklet, således at screeninger af stofgrupper var mulig. Dette princip har senere haft stor betydning inden for den kliniske biokemi. Man kan benytte udtrykket immunkemisk screening

'FALSK POSITIV' = resultatet er positivt, selvom prøven ikke indeholder de stoffer, der testes for.

'FALSK NEGATIV' = resultatet er negativt, selvom prøven indeholder de stoffer, der testes for.

som et fælles begreb for en analyseform, hvor antistoffer 'genkender' et specifikt molekyle eller en gruppe af nært beslægtede kemiske stoffer i prøven.

Immunkemisk screening

Immunkemisk screening kan foregå ved hjælp af såkaldte plade- eller paneltests, hvor grupper af stoffer analyseres ved at påsætte urin fra en pipette, afvente en reaktion og aflæse resultatet i form af streger eller bånd som ved en graviditetstest. Der kan også være tale om neddypning af en 'cup' eller test-strimler i urinprøven (se foto). Disse manuelle tests anvendes til patientnær testning i blandt andet fængsler og behandlingsinstitutioner, men også af hospitalspersonale på skadestuer og intensivafdelinger. I det følgende vil jeg benytte udtrykket 'hurtigt-tests' for denne teknik.

Det immunkemiske analyseprincip kan også fungere i en automatiseret, instrumentel udgave, som det ses i apparatur ved hospitalslaboratorier. Her er ingen visuel aflæsning, idet et spektrofotometer i instrumentet måler ændringer i lysabsorption i de flydende reagenser, der blandes med prøven. Instrumentel, immunkemisk screening er meget veldokumentet, standardiseret og valideret inden for reglerne for anvendelse af medicinsk udstyr til laboratorieanalyser. Det er en hurtig og relativt billig teknik, og derfor et vigtigt, uundværligt redskab for misbrugslaboratoriet.

Falske positive og negative resultater

Det er ikke nødvendigt at forstå detaljer af de immunkemiske analyser for at benytte dem, men en fornemmelse af fejlkilderne er vigtig. Såvel hurtigt-tests som instrumentel immunkemisk screening har de samme grundlæggende fejlkilder. Problemet er, at antistofferne 'krydsreagerer' med andre stoffer i prøven og giver anledning til 'falske positive' resultater. Krydsreaktioner

kan foregå med lægemidler og deres nedbrydningsprodukter eller naturligt forekommende komponenter i urinen (som stammer fra kroppen). Ligeledes kan et positivt resultat udeblive, selvom prøven faktisk indeholder de stoffer, der testes for. Sidstnævnte kaldes et 'falsk negativt' resultat (se faktaboks).

Hos behandlingsinstitutioner og i fængsler anvendes hurtigt-tests af forskelligt fabrikat, sensitivitet og analyseprogram, således at de er svært sammenlignelige. Visse forhandlere af hurtigt-tests markedsfører produkter, som tester for stoffer, der ikke er tilgængelige i Danmark (f.eks. PCP, phencyclidin). Disse anvendes desværre også i hospitalssektoren til hurtig testning under forgiftninger, hvor hyppigt forekomne 'falske positive' PCP-resultater kan give anledning til utilsigtede hændelser (UTH) med risiko for patientsikkerheden¹.

Verifikation

Fænomenet med krydsreaktioner som fejlkilde er meget velkendt. I USA førte det til, at de involverede myndigheder (SAMHSA, NIDA) allerede i 1989 udformede meget præcise anbefalinger og retningslinier for testningen og afgivelse af analyseresultater². Det indebærer, at alle positive screeningsresultater skal verificeres med en anden analysemetode, der skal være specielt velegnet til entydig stofidentifikation, og som ikke må udvise 'falske negative'. Overordnet accepterede man derfor det faktum, at man efter immunkemisk screening havde et antal 'muligt positive', der fører til verifikationsanalyser (konfirmatorisk testning), som kan finde de 'sande positive'. Krav til høj følsomhed og specificitet for konfirmatorisk testning medførte, at man anbefalede brug af meget dyrt og kompliceret analyseudstyr baseret på kromatografi og massespektrometri (se faktaboks). Her er tale om referenceudstyr inden for en række vigtige områder såsom dopingana-

lyser, retskemiske undersøgelser, miljøundersøgelser og farmaceutisk forskning.

Lovgivning og retningslinier

I EU har man udformet retningslinier, når narkotikatestning udføres i forbindelse med arbejdspladsundersøgelser (*Workplace Drug Testing*), men disse regelsæt er ikke implementeret i Danmark³. Flere lande har udformet egne retningslinier, bl.a. skelner man i Norge mellem rutinemæssig, diagnostisk testning, og testning som kan medføre alvorlige sanktioner over for den testede. Eksempelvis stiller man ikke samme strenge krav til analysekvalitet ved undersøgelse af, hvorvidt patienter i substitutionsbehandling tager de ordinerede lægemidler (metadon, buprenorfin), som til en analyse, hvis udfald kan medføre tab af rettigheder til uddannelse, bolig, forældremyndighed og samkvem med børn. Alle retningslinier, uanset oprindelse, stiller både overordnede og specifikke krav til laboratoriet (kvalitetssikring og uddannelse) og til selve prøvetagningen. Sidstnævnte er helt essentielt, idet det absolut ingen mening giver at teste urinprøver, som ikke er udtaget under kontrol.

I Danmark har Sundhedsstyrelsen advaret mod brugen af hurtigt-tests, og i vejledningen for den lægelige behandling af stofmisbrugere i substitutionsbehandling findes en række specifikke krav til laboratoriet⁴. Generelt følges disse ikke, hverken i hospitalssektoren eller hos private, kommunale eller regionale institutioner.

Nye anbefalinger på vej

Fremtiden ser dog noget lysere ud, idet Dansk Selskab for Klinisk Biokemi (DSKB) i 2010 nedsatte et udvalg, som er i færd med at udforme et kommissorium til kvalitetsmæssige anbefalinger for misbrugsanalyser. Her kan man forvente opstramninger i forhold til screeninger

uden verifikation, og heldigvis er der tradition for at følge de danske, faglige selskabers retningslinjer inden for laboratoriemedicinske specialer. Som situationen er nu i hospitalssektoren, tilbydes verifikationsanalyser fire steder i landet (Sygehus Vendsyssel, Århus Universitetshospital, Rigshospitalet og Bispebjerg Hospital).

Fortolkning af svar

Ved daglig kontakt til rekvirenter af misbrugsanalyser oplever vi en forventning om, at analyseresultater er eksakte og kan føre til entydig fortolkning. Spørgsmålene er: *Hvad, hvor meget og hvornår?* For at kunne give et mere kvalificeret bud på dette, vil blodprøver være nødvendige efterfulgt af komplicerede, farmakokinetiske beregninger. Men der findes desværre ikke en entydig sammenhæng mellem koncentrationen af lægemidler og narkotika i urin, og hvorvidt patienten er påvirket eller ej. Der findes heller ikke en simpel måde at estimere dosisstørrelse eller indtagelsestidspunkt ud fra urinanalyser. Analyserne viser kun et øjebliksbillede, og de observerede værdier er ikke til megen hjælp, hvis ikke man kender indtagelsestidspunkt, indtagelsesform, frekvens etc. Endvidere viser nyere forskning store variationer mellem individer, ja, selv inden for samme individ, med hensyn til metabolisme af lægemidler. Dette kan henføres til både genetiske faktorer og til typen af mikroorganismer i tarmen, køn, fysiologi, alder, vægt, sygdom, fysisk aktivitet og kostsammensætning.

'Cut-off' begrebet

Screening og hurtigtests foretages med en tærskelgrænse, der skiller positive fra negative prøver. Man bruger ofte udtrykket 'cut-off', som er en kvantitativ værdi for denne grænse, altid udtrykt i en koncentrationenhed (ng/ml = nanogram pr. milliliter - et nanogram er 10^{-9} gram,

lig med 0,00000001 g). Selvom der findes anbefalinger for faste 'cut-off' grænser, kan der være god grund til, at laboratoriet modificerer disse alt efter formålet. Der findes også 'cut-off' grænser for konfirmatoriske analyser, og der skal være en logisk sammenhæng imellem grænserne for henholdsvis screening og verifikation. I Tabel 1 ses et sammendrag af 'cut-off' værdier for analyser på Sygehus Vendsyssel. Hvis der for et

stof eller stofgruppe ikke er opgivet en 'cut-off' værdi i kolonnen screening, findes der ingen immunkemisk metode. Her må laboratoriet selv angive, hvilken værdi der benyttes, og denne vil i praksis være afhængig af metodevalg og apparatur.

Det er yderst vigtigt at pointere følgende punkter: Ingen analyser måler 'ned til nul'. Derfor er resultatet 'NEGATIV' eller '0' ensbetydende med, at der *ikke* er detekteret

KROMATOGRAFI = generel betegnelse for separationsteknik, hvor forskellige komponenter i prøven adskilles, inden de detekteres og kvantificeres. Kromatografi benyttes også til prøveforberedelse (oprensning, ekstraktion) inden selve analysen.

MASSESPEKTROMETRI = detektionsmetode baseret på måling af molekylers masse, hvilket er et af de mest følsomme og specifikke måleprincipper, der findes. Anvendes til både forskning og rutineanalyser.



FOTOS: KIM SLEIBORG

Eksempel på hurtigtest som måler på 10 stoffer - anvendt på Sygehus Vendsyssel (Skadestuen). Testen viser positiv reaktion for amfetamin (AMP) og benzodiazepiner (BZD). Foto: Sygehus Vendsyssel efter aftale med Niche Pharma (Herlev).

Tabel 1: 'Cut-off' værdier for screening og verifikation
samt vejledende påvisningstider for en række narkotika og lægemidler

Medikament eller gruppe	Cut-off (ng/ml) Screening	Cut-off (ng/ml) Verifikation	Vejledende påvisningstid
Amfetaminer og ecstasy (MDMA)	300	200	2-3 døgnet
Kokain	150	Benzoylcgonin: 50	2-4 døgnet
Cannabinoler	50	THC-COOH: 15	Fra 2-3 døgnet op til 4-5 uger
Benzodiazepiner *	300	200 *	Fra 3-4 døgnet op til 4-6 uger
Barbiturater	200	150	2-3 uger (phenobarbital)
Opiater (inkl. heroin)	300	Kodein: 200 Morfin: 200	2-3 døgnet
6-monoacetylmorfin	15	10	< 1 døgnet
Oxycodon	100	Oxycodon: 100 Oxymorphone: 100	2-3 døgnet
Propoxyphen **	300	250	
Metadon	300	Metadon: 250 EDDP: 250	3-7 døgnet
Buprenorfin	5	5	1-3 døgnet
LSD	1	1	2-5 døgnet
Methaqualon **	300	300	6 døgnet
Phencyclidin **	25	25	3-8 døgnet
Ketobemidon	-	500	2-3 døgnet
Tramadol	-	500	2-3 døgnet
Ketamin	-	500	2-3 døgnet
Khat	-	Phenylpropanolamin: 100	1-2 døgnet
Methylphenidat	-	Methylphenidat: 500 Ritalinsyre: 500	1-2 døgnet
Fentanyl	-	Fentanyl: 1 Norfentanyl: 1	3 døgnet
GHB	-	10000	3-6 timer

* afhænger af det enkelte lægemiddel

** disse stoffer misbruges i sjældnere grad og analyseres ikke længere rutinemæssigt.

stoffer i prøven med en koncentration over 'cut-off' værdien. Således er der heller ikke tale om ægte 'falske negative' resultater, hvis stoffet, man tester for, er under analysens 'cut-off' grænse. I screeningsanalyser er 'falske positive' og 'falske negative' altid mulige (intet produkt er fejlfrit). Hvis ikke produkter til misbrugsanalyser markedsføres i samklang med disse facts, er det pseudovidenskabeligt⁵.

Urinprøvens fortyndingsgrad

Ligesom analyse af en urinprøve blot er et øjebliksbillede af indholdet af narkotiske stoffer, muligvis

stammende fra flere forskellige doser/indtagelser, så er resultatet (POS/NEG) stærkt afhængig af urinenes fortyndingsgrad. Denne kan bestemmes ved at måle indholdet af stoffet creatinin (nedbrydningsprodukt fra protein), der for hvert individ udskilles med konstant hastighed (= konstant daglig mængde). Urinens indhold af creatinin kan variere med mindst en faktor 15 afhængig af dehydrering eller stor væskeindtagelse. Jo mere koncentreret urinprøven er, des højere vil koncentrationerne være af nedbrydningsprodukter fra lægemidler og narkotika. Deraf følger, at tynde

urinprøver kan give 'falske negative' resultater. På grundlag heraf har man fastlagt acceptkriterier for lave creatinin-værdier. Det vil sige, at en prøve kan afvises som værende 'uegnet til testning'. Da urinen kan variere meget i fortyndingsgrad, er det også sandsynligt, at en prøve ligger tæt på 'cut-off' grænsen og rapporteres skiftevis positiv og negativ i to på hinanden følgende tests.

Sløring af resultater

Prøven kan også være uegnet til testning af andre årsager end lave creatinin-værdier. Der kan være forsøg på snyd fra patientens side

VIL DU VIDE MERE OM MISBRUGSANALYSER?

Fremover vil Torben Breindahl være at finde i STOF' spalter, så hvis du har konkrete spørgsmål eller forslag til emner, der bør uddybes set fra laboratoriets synsvinkel, er du meget velkommen til at skrive til os på bj@crf.au.dk



som vejledende værdier (se Tabel 1). Man kan desuden udtage en prøve for hurtigt, inden stoffet er nået at komme ud i urinen, så der eksisterer også en *minimumstid*, før koncentrationen kan detekteres i urin. Denne tid skønnes normalt til at være 4-8 timer. Dette kan indebære, at en patient kan forekomme stofpåvirket under prøvetagningen, uden at dette vil fremgå af testen. Behandleren kan senere undre sig over det negative resultat. Et stof kan godt nå at have en virkning på personen i et stykke tid, inden det kan påvises i en urinanalyse. Et uventet negativt analyseresultat fra en tydelig påvirket person kan altså skyldes, at ind-

ved mangel på kontrol under prøvetagningen, hvor der kan tilsættes diverse kemikalier. Laboratoriet kan checke for forskellige kendte 'sløringsmidler' (eng: adulterants), men det vil øge omkostningerne væsentligt. En obligatorisk test, som bør udføres for alle prøver, er måling af urinens surhedsgrad eller pH-værdi, der kan afsløre tilsætning af visse almindelige husholdningskemikalier. Her har man også acceptgrænser for pH-værdien, der medfører, at en prøve kan afvises. På internettet tilbydes misbrugerne en række midler til sløring af urinprøver. Nogle af disse virker efter hensigten, hvilket er videnskabeligt bevist ved omhyggelige forsøg, men mange gør heldigvis ikke.

Påvisningstid

Der er mange bud i litteraturen på påvisningstider for de forskellige stofgrupper, og man må konkludere, at det varierer betydeligt, selv inden for samme klasse af misbrugsstoffer. Ofte er man derfor henvist til at søge viden om det enkelte stof og benytte Dansk Lægemedlinformations hjemmeside (<http://pro.medicin.dk/>), som redigeres af eksperter. En tommelfingerregel er, at lægemidler - efter en enkelt dosis -



FOTOS: KIM SLEIBORG

er fjernet fra blodet efter 5 gange plasmahalveringstiden for stoffet. Påvisningstider i urin er en smule længere end i blod. Er der tale om kronisk misbrug og er stoffet meget opløseligt i fedtvæv, kan udskillelsen tage længere tid (f.eks. Cannabinoler). Påvisningstider er afhængige af den analysemetode, man benytter ('cut-off'), og kan kun betragtes

tagelsestidspunktet har været for tæt på prøvetagningen.

Nye stoffer og lægemidler

I de senere årtier har man set en række nye, farlige og potente misbrugsstoffer dukke op i handelen, samtidig med at misbruget af legale lægemidler er vokset. Der ses også et skift i, hvilke typer af mis-



brug der verificeres i laboratoriet. For eksempel ses et meget lavt antal prøver positive for kokain, selvom der er rapporteret et stigende misbrug af stimulanter. Udbuddet af nye amfetaminlignende, syntetiske stoffer har været stærkt stigende på markedet, og misbrugere af 'ecstasy' er nu i en situation, hvor de ikke ved, hvad tabletterne indeholder. Retskemikerne rapporterer om et dalende indhold af MDMA ('ecstasy', methylen-dioxymetamfetamin) i de tabletter, som politiet beslaglægger. I stedet er der i de senere år sket et markant skift til en række nye stoffer, herunder piperaziner.⁶ I øjeblikket er en positiv MDMA-prøve næsten en sjældenhed i vores laboratorium. Forbruget af syntetiske opioider (tramadol, oxycodon) er stigende, og en ny trend er misbrug af methylphenidat, det aktive stof i lægemidler til behandling af ADHD (f.eks. Ritalin og Concerta). Indsmugling af khat-blade, der misbruges af visse etniske grupper fra Østafrika og Yemen, ses også. Forgiftninger med GHB ('fantasy', gamma-hydroxybutyrat) er ved at blive en rutinesag for Giftlinien på Bispebjerg Hospital, og flere af disse tilfælde har haft dødelig udgang. GHB kan fremstilles fra en væske (gamma-butyrolakton = GBL), der importeres illegalt i ren kemisk form fra forhandlere på internettet under betegnelsen 'fælgrens'.

Ligeledes er multi-misbrug og eksotiske blandinger af stoffer ofte et problem, og lægerne på landets intensiv afdelinger har store udfordringer under den akutte behandling af de forgiftede patienter. Her er det tvivlsomt, hvorvidt analyser overhovedet har en berettigelse, ud over en senere opklaring af hvad patienten havde indtaget. Hurtigtets er ikke pålidelige i denne sammenhæng, idet høje doser af lægemidler og narkotika medfører øget risiko for krydsreaktioner. Nogle stoffer kan helt overses ved rutineanalyser. Eksempelvis når det drejer sig om

en patient, som indlægges akut for en forgiftning med 'fantasy', hvor der ikke findes en let tilgængelig laboratorietest, som kan bekræfte de høje koncentrationer af GHB i blod eller urin. Det hænder, at forgiftningstilfælde og nye narkotikafund, som omtales i pressen, aldrig er blevet verificeret med laboratorieundersøgelser.

Moderne misbrugstestning står således over for store udfordringer, da man i de ulovlige misbrugslaboratorier har stor ekspertise i at håndtere og fremstille nye stoffer, som sendes til afprøvning blandt brugere. De nye 'syntetiske cannabinoler' er et eksempel herpå. Desuden findes såkaldte 'legale rusmidler' (*legal highs*), der markedsføres under diverse forklædninger (natur- og hel-seprodukter, ernæringstilskud). Det repertoire af analyser, der skal til for at spore nutidens misbrugsstoffer, er derfor meget stort (se Tabel), og der vil altid være en risiko for at overse nye stoffer under testningen.

Visse stofgrupper giver særlige fortolkningsproblemer ved misbrugstestning. Det drejer sig især om Cannabis, opioider og benzodiazepin-gruppen. Det vil være for omfattende at diskutere detaljerne i denne artikel,⁷ men det er vigtigt for misbrugsbehandlere at søge denne viden, hvis de vil skærpe deres kompetence og ekspertise inden for testning og vurdering af analyse-resultater.

Konklusion

Testning for misbrug af lægemidler og narkotika er en krævende disciplin med store tolkningsproblemer, mytedannelser, misforståelser samt mangel på national lovgivning og anbefalinger. Der er også kommercielle interesser, idet private aktører er på banen med salg af hurtigtets, som ikke altid egner sig til formålet. Set fra hospitalslaboratoriets synsvinkel er misbrugsanalyser en teknisk kompleks og udfordrende opgave, som ikke bør undervurderes.

Området er i konstant forvandling, da der kommer nye illegale stoffer på markedet, hvorved analyser og procedurer løbende skal tilpasses efter behovet. Der er plads til kvalitetsmæssige forbedringer, som i højere grad sikrer, at man tester for alle relevante stoffer på en forsvarlig måde, og at falske eller mangelfulde resultater ikke får alvorlige konsekvenser for de involverede patienter, klienter og borgere. ■

FOTOS: KIM SLEIBORG

NOTER

- 1 Peter Hindersson og Torben Breindahl: Giver det mening at teste for 'englestøv'? *Ugeskr Læger* 2011; 173(19): 1379
- 2 På hjemmesider fra diverse sundhedsmyndigheder i USA findes et omfattende materiale om misbrugstestning, legale aspekter og guidelines: <http://www.samhsa.gov>
<http://www.nida.nih.gov>
<http://workplace.samhsa.gov/Dtesting.html>
- 3 EU-guidelines for arbejdspladstestning for rusmidler og narkotika er udarbejdet af 'European Workplace Drug Testing Society' (EWDTS) og findes på <http://www.ewdts.org/guidelines.html>
- 4 Sundhedsstyrelsens notat om anvendelse af hurtigtets findes på: <http://www.sst.dk/Sundhed%20og%20forebyggelse/Narkotika/Hurtigtets.aspx> Vejledning nr. 42 af 01/07/2008 (Indenrigs- og Sundhedsministeriet)
- 5 Mange hurtigtets er grundigt undersøgt og valideret under sammenligning med referencemetoder og findes beskrevet i den videnskabelige litteratur. I EU-projektet ROSITA-2 (Roadside Testing Assessment) konkluderede man, at intet apparatur til urin- og spyt-tests kunne overholde alle kravspecifikationer. Se <http://www.rosita.org/>
- 6 Piperazin-gruppen består bl.a. af stofferne BZP (Benzylpiperazin), TFMP (Trifluor-methylphenylpiperazin) og CPP (Chlorphenylpiperazin), der har euforisk og stimulerende virkning, men også en række bivirkninger. Se rapporterne 'Ecstasy i Danmark' og 'Hvad indeholder ecstasy-pillerne?' for perioden 2002 til 2009 fra Sundhedsstyrelsens hjemmeside: <http://www.sst.dk/Udgivelser.aspx>
- 7 Vejledninger i tolkning af Cannabis- og Opiat-analyser findes på Region Nord's laboratorievejledning under U-medikamentpåvisning (misbrug): <http://www.laboratorievejledning.dk>

ANBEFALEDE BØGER

Liu, H.R. & Goldberger, B.A.: *Handbook of Workplace Drug Testing*. AACCC Press. 1995.
Dasgupta, A.: *A health educator's guide to understanding drug of abuse testing*, Jones and Bartlett Publishers. 2010.
Karch, S.B. (Red): *Drug abuse handbook*. CRC Press. 1998.