

Controle DOA testen in het KKG T-programma

KKGT



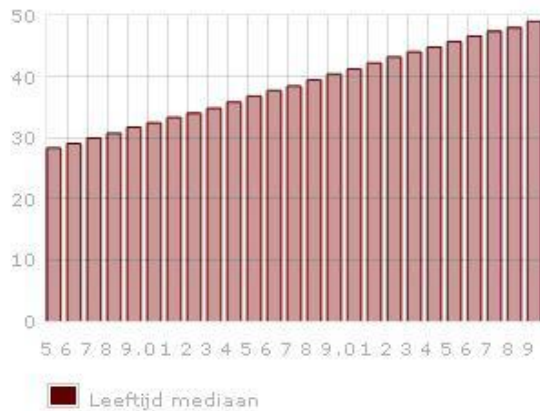
Drs. Peter Zweipfenning, apotheker, toxicoloog
Coördinator programma DOA KKG T/SKML,
Vice voorzitter SKML
Apotheker, Toxicoloog bij Atal-Medial, Amsterdam

Waar gaat het om?



Een doel

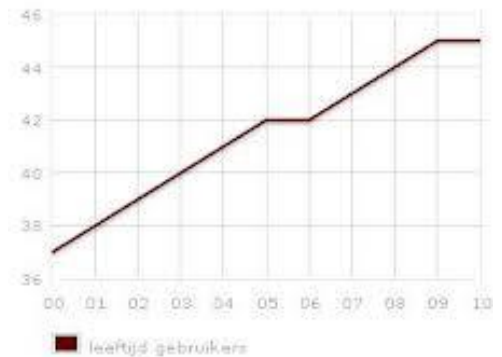
leeftijd (mediaan) methadon cliënten van 1985 - 2009



Bron GGD amsterdam



Gemiddelde leeftijd heroïnegebruikers 2000 tot 2010



Kerncijfers verslavingszorg



Drugs of Abuse (DOA):

Genotmiddelen die onder de werking van de Opiumwet vallen en (vele) andere

Opiumwet:

- Opiaten
- Methadon
- Buprenorfine
- Cocaïne
- Amfetamines
(incl. ecstasy e.d.)
- Cannabis,
- Benzodiazepines.
- GHB

Niet-Opiumwet:

- Alcohol
- Ethylglucuronide
- Cotinine
- Ketamine
- (andere) Designer drugs....

Principe van de testen

- Screenings testen,

- Principe:

1. Immunologisch
2. Enzymatisch
3. Chemisch

- **Uitgangspunten:**

- **Het is ofwel een aanleiding voor een bevestiging**

- “Bevestigingsonderzoek dient te geschieden met een op een ander analytisch chemisch principe berustende techniek.” (ref. kkg website)

- **Dan wel aanleiding voor een goed gesprek tussen cliënt en behandelaar.**

DOA testen in de praktijk

- Grote aantallen & lage positief-frequentie veelal:
 - Immunoassay
 - Chemische of enzymatische reactie

Voordelen

- + Goed te automatiseren/weinig handwerk
- + Snel, Goedkoop
- + Geroepsreactie (b.v. alle benzodiazepines)

Nadeel

Groepsreactie (b.v. (alle) benzodiazepines)

Principe: Immuno assay

Analyt + antilichaam >>> Complex

An + AB >>> AnAB

Tracer reactie: b.v. enzym reactie

b.v. e.m.i.t. Enzyme Multiplied Immuno assay technique

NAD > NADH omzetting (= UV meting)

Glucose 6-fosfaat dehydrogenase.

FPIA = fluorescentie - based

- Kruisreacties (vóór- en nadeel)
- Matrix effecten o.a. storing van de enzym reacties

Principe v. Screening v.v.

- **Enzym reactie:**

Alcohol + NAD.....oiv ADH ----->

aceetaldehyde + NADH

NADH absorbeert UV 360 nm.

- **Chemische reactie:**

Kreatinine + picraat + loog ----->gele kleur

Uitvoeringsvormen: 2 typen:

1 Instrumenteel (type nrs KKGTT dan 1-5) (immun. Chem. of chem./enzym)

Reagens mengen reactie UV/vis. meting, calibreren



Uitvoeringsvormen: 2 typen:

2^e snel-test / zelftest/ POCT.

Type 6 “sneltest” of POCT-test

diffussie door medium richting Anti Lich. Met kleur reactie (vis.)



- **Clïent i.t.t. Patiënt:** niet altijd belang bij meting, vaak in tegendeel.
 - Fraude
 - Water drinken
 - Chemicaliën toevoegen

Geen enkele analyse is
betrouwbaarder dan zijn monster.

M.b.t. Verzamelen van urine (**Toezicht noodzakelijk!**)

- Op toilet vaak waterkraan, bleek e.a. schoonmaakmiddelen.
- Urine van anderen mee.



Cut off waarde =

Een zo veel mogelijk rationele maar arbitraire waarde die is aangenomen voor de rapportage:

POSITIEF/NEGATIEF.

Een combinatie van:

- Wat is farmacologisch/klinisch relevant?
- Wat is analytisch haalbaar/verantwoord.
- Is bij Imm. Ass. gebaseerd op de kruisreactiviteit van de calibrator.



Cut off waarde

voorbeeld benzodiazepine test

(Cedia®, Thermo Scientific)

Calibrator = nitrazepam: 300 ng/mL levert signaal van 300

Voor de volgende benzo's is de volgende concentratie nodig voor een signaal van 300

- Flunitrazepam 139 ng/mL
- N-desmethyl-flunitrazepam 3100 ng/mL
- 7-aminoflunitrazepam 400 ng/mL
- Oxazepam 257 ng/mL
- Oxazepam glucuronide **negatief** zelfs als >10.000 ng/mL (*)
- Diazepam 45 ng/mL
- Chloordiazepoxide 16.000 ng/mL
- Nordazepam 71 ng/mL
- Triazolam 78 ng/mL

*) On the fly kan een deglucuronidering kan worden uitgevoerd.

Cut- off waarden (screening)

• TEST	gemeten als (b.v.)	conc. (ng/mL)
• Opiaten	morfine	300
• Cocaïne	benzoylecgonine	300
• Cannabinoïden	11-nor- Δ -9-THC-COOH	50
• Amfetamines etc.	D-methamfetamine	1000
• XTC	MDMA	1000
• Methadon	methadon of EDDP	100
• Buprenorfine	buprenorfine	5,0
• Benzodiazepines	oxazepam/nitrazepam	200
• Barbituraten	secobarbital	200
• Ethylglucuronide	ethylglucuronide	57 mg/mol

Validatie immuno assay drugtest, resultaat score Pos/Neg relateren aan ware waarde

	Gezochte drug	
	aanwezig	afwezig
analyse resultaat +	echt positief	fout positief
analyse resultaat -	fout negatief	echt negatief

Beschrijving rondes KKGTT-DOA

- 4 x per jaar 2 monsters urine (8-10 mL)
- Met 0,1,2,..... Stoffen gespiked, soms pat. Materiaal.
- Vraag:
 - Relevante drugs aanwezig: screening en event. bevestiging.
 - kreatinine gehalte en eventueel indicatoren dat het monster niet normaal is.

Rapport formulier
screening, bovenkant

URINE SCREENING RONDE 2011.1 A	Cut-off µg/l	conc. µg/l	metho d code	E/N*	result** N/ P/ NT
OPIATEN:	300				
COCAINE : (benzoylecgonine)	300				
AMFETAMINE-achtigen ***					
AMPHETAMINE ***	1000				
METHYLAMPHETAMINE	1000				
MDA ***	1000				
MDMA***	1000				
MDEA ***	1000				
CANNABIS: THC (1-nor-9-COOH-9-THC)	15				
METHADON:	300				
EDDP	100				
Benzodiazepines	200				
Barbiturates:	200				
Ethanol:	0,1 mg/mL				
Other drugs:					

Rapport formulier screening, onderkant

E: enzymatische hydrolyse of N: niet-enzymatische hydrolyse. *N: negatief, P: positief
of NT: niet getest

1. FPIA

- a. Axsym
- b. TDx/FLx
- c. FPIA, COBAS

2. EIA

- a. EMIT II
- b. EMIT II plus
- c. Beckman Coulter
- d. DRI
- e. DST
- f. Architect

3. CEDIA

4. KIMS(=online)

5. ELISA

- a. COZART
- b.....

6. RAPID ON-SITE TESTING

- a. Syva Rapid
- b. Micron
- c. Triage
- d. Abusign
- e. Accusion
- f. Ontrack
- g. Abuscreen
- h. 'Druglab
- i. SSD Rapid Drug
Test
- j. Sure screen
- k. Quick Screen
- l. Bio-Rad
- m. Dima
- n. Fastect II
- o. Acon One Step
- p. Testcard 9
- q.;

7. Other immunochemical (semi)quantitative techniques

Rapport formulier
bevestiging , bovenkant

URINE CONFIRMATION RONDE 2011.1 A		Cut-off µg/l	conc. µg/l	method code	E/N*	result** N/ P/ NT
Opiates:	6 MAM	15				
	MORPHINE	300				
	CODEINE	300				
Cocaine :	BENZOYLECGONINE	150				
Amphetamines:	AMPHETAMINE	500				
	METHYLAMPHETAMINE	500				
	MDA	500				
	MDMA	500				
	MDEA	500				
Cannabis :	THC (1-nor-9-COOH-9-THC)	15				
Methadone:	METHADONE	300				
	EDDP	100				
Benzodiazepines	100				
Barbiturates:					
Ethanol:						
Other drugs:					

Rapport formulier
bevetiging, onderkant

* **E**: enzymatic hydrolysis or **N**: nonenzymatic hydrolysis

** **N**: negative, **P**: positive or **NT**: not tested

Method code:

8. TLC	9. HPLC	10. GC
a. Toxilab	a. STIP/DAD	a. MS*
b. Conventional	b. UV/FLU/EC	b. FID/NPD/EC
c. HPTLC	c. MS*	c.
d.....	d.	

*: details van MS-detectie:

.....

COMMENT:

Rapportage van een KKG T DOA
ronde. Screening+ bevestiging

Dit betreft een urine waaraan

654 microg/L Oxazepam is

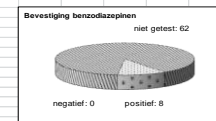
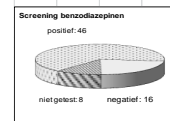
toegevoegd. (2012-3B)

Screening benzodiazepinen					Bevestiging benzodiazepinen				
Lab	ip1	code	resultaat	calibrator	Lab	stofnaam	ip1	code	resultaat
1	365	1a	P		1	oxazepam	ip1	sta1	P
2					2				
3		6q	P		3				
5	388	1a	P	nordn	5	oxazepam	532	9b	P
6					6				
7	639	2a	P		7				
8	109	4	N		8		3b en 3c		P
10					10				
11	606	2bN	P		11		955	9c	P
12	867	2c	P		12				
13		6cN	N		13				
14		6c	N		14				
15			NT		15				
16		1c	N		16				
18	416	2	P		18				
19		6c	P	oxa	19				
20	860	2bE	P		20		623	9cE	P
22	604	2bE	P		22				
23	390	1a	P		23				
24	554	2b	P		24				
25					25				
26	373	1a	P	nordn	26				
27					27				
29	762	2f	NT	oxa	29	oxazepam	535	9d	P
30	372	1aN	P	nordn	30				
32	533	3	P	nordn	32				
33		6c	N		33				
34	762	2f	P		34				
37		6c	P		37				
40		6b	P		40				
42	485	2E	P		42				
43	494	3	P	oxa	43				
45		6c	N		45				
47		6c	N		47				
49		6qN	P	oxa	49				
50		6l	P		50				
52		1a	P		52				
53		6q	P		53				
54		2b	P		54				
55		6qN	P		55				
56	459	4N	P		56				
58		6c	N		58				
60	367	1a	P		60				
61	517	2E	P	ntrn	61	oxazepam	>100	9cE	P
65		6c	N		65				
66					66				
67		1a	P		67				
68	<300	6cN	N		68				
69	390	1aN	P		69				
70					70				
73	<800	2E	P		73				
74		2E	P		74				
75		2bE	P		75				
80	<200	6c	N		80				
81	426	1aE	P	nordn	81				
83		6c	N		83				
84					84				P
85	753	2bE	P		85				
94		6h	P		94				
99		6w	P		99				
103	493	3	P		103				
104		6cN	N		104				
106					106				
110		6c	N		110				
112	488	3	P		112				
115		6cN	N		115				
132	850		P		132				
133		6m	P		133				
135					135				
139	488	4	P		139				
	total	meth. 1	meth. 2	meth. 4		total			
N	28	11	13	5	N	4			
gemiddeld	624	384	718	368	gemiddeld	611			
SD	170	18	104	152	SD	141			
range	109-867	365-425	554-867	109-488	range	623-855			

Code: 1a=FPIA, Acsym; 1c=FPIA, COBAS; 2b=EMIT II plus; 2c=Beckman Coulter, 2d-DR; 2f-architect;
3=CEDIA; 4=KHS; 6a=Syva Rapid; 6c=Trizec; 6h=DrugLab; 6i=Sure Screen; 6m=Acon one step
6q=NAL 24; 6s=Drugcontrol Ultramed; 6i=Instalart; 6w=Sanelco; 6w=Split Specimen Cup; 6w=Alere I Screen;
9a=HPLC/STIP/DAD; 9b=HPLC/UV/FLU/EC; 9c=LC/MS/MS; 10a=GC/MS; 10b=GC/FID/NP/EC

Resultaat: P=positief, N=negatief en NT= niet getest.

De letter E achter de methodecode betekent enzymatische hydrolyse, de letter N niet-enzymatische hydrolyse.



	P	N	NT		P	N	NT	
	46	16	8		8	0	62	

Wat doen we er als KKGt mee?

Resultaten:

- Output
 - ✓ Kwalitatieve score v.d. screening
 - ✓ Conclusie Pos/Neg v.d. screening
 - ✓ Bevestiging van de stof met b.v. een MS techniek
 - ✓ Juiste conclusie van de bevestiging (N.B. afwijkende cut-offs)
 - ✓?
- Outcome
 - ✓ Algemeen oordeel over bruikbaarheid methodes. ?

V.B. screening cannabis ronde 2012-2B conclusie +/-

Screening cannabis				THCCOOH 101 microg/L	DOA ronde 2012-2B
Lab	µg/l	code	resultaat	waarde ca 2x de cut-off	
	92	1a	P	cut-off 50 microg/L	
	77	1a	P		
	67	1a	P		
	89	1a	P		
		1a	P		
	99	1a	P		
	101	1a	P		
		1a	P		
	100	1a	P		
	92	1aN	P		
	78	1aN	P		
	92	1cN	P		
	92	1cN	P		
	>100	2a	P	Methode 1: correct 13/13 (100%)	
		2b	P		
		2b	P		
	74	2bE	P		
	65	2bN	P		
		2c	P		
		2cE	P		
		2cN	P		
	45	2d	N		
	93	2d	P		
	76	2E	P		
	75	2f	P		
	67	2f	P		
	78	2f	P		
	66	2f	P		
	77	2f	P		
	50	2fE	?	Methode 2: correct: 14/16 (88%)	
	83	3	P		
	96	3	P		
	95	3	P		
	70	3	P		
	100	3E	P	Methode 3: correct 5/5 (100%)	
	93	4	P		
		4	P		
	101	4	P		
		4	P		
	87	4	P		
	71	4	P		
	76	4	P		
	90	4	P		
	84	4N	P	Methode 4: correct 9/9 (100%)	
		5a	P	Methode 5: correct 1/1	

		6a	P		
		6aN	P		
	86	6c	P		
		6c	P		
		6c	P		
		6c	P		
		6c	P		
		6c	P		
		6c	P		
	>50	6c	P		
		6c	P		
		6c	N		
		6c	N		
		6cN	P		
		6cN	N		
		6h	P		
		6j	N		
		6j	P		
	99	6p	P		
		6q	P		
		6q	P		
		6q	P		
		6q	P		
		6q	P		
		6s	P		
		6w	P		Methode 6: correct 21/25 (84%)
	80		P		
	totaal	meth 1	meth 2	meth 3	
N	14	11	11	5	
gemiddeld	88	89	70	89	
SD	10	10	13	11	
range	45-101	67-101	45-93	70-100	

Lastig te beoordelen:

- Is het een methode fout of een administratieve fout?
- Bevestigingen:
 - weinig frequent uitgevoerd.

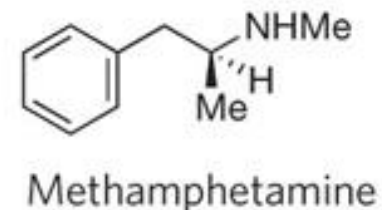
En dan zijn er ook nog NON-routine stoffen: één voorbeeld:

- **DOA-2012-3-A**

Het betrof hier urine gespiked met (o.a.)

mefedron (mephedrone) (alias; Miauw) ,1015 µg/L.

- lijst I van de NL Opiumwet als mefedron of 4-methylmethcathinon).



- mephedron door 2 labs aangetoond .

- Geen enkel immuno assay pikte het op. Terwijl het aan de amfetamines verwant is en nu ook in NL onder de regulering van de Opiumwet valt.
- De twee labs die het vonden deden dit via bevestigingsmethodes (MS) hier dus gebruikt in screenings modus (details niet gerapporteerd.).

Dank u voor uw aandacht!

Discussie:

Suggesties?

Opmerkingen?

Ideeën?