



Wat is (de) kwaliteit van
DOA testen ?

drs. Peter Zweipfenning,
apotheker, toxicoloog (ERT)

SKLM symposium, Ede, 9 juni 2015

Wat is kwaliteit ?

Fitness for use / Conformance to requirements

- Wat is correct? (m.n. definities)
 - &
 - Voor een beschouwing vanuit het lab praat- en werkt het gemakkelijker volgens de vraag:
 - “Wat kan er fout gaan”.

 - (Vgl.: HACCP Hazard Analysis and Critical Control Points)
-

TYPEN AFWIJKINGEN

- Analyse resultaat Fout -positief/-negatief
 - Verzamelen/verpakken/verzenden
 - Administratief / ICT
 - Wie is verantwoordelijk voor identificatie monster?
 - (Non-)integriteit
 - (thee met methadon, urine met WC-reiniger... etc.)
 - Communicatie
 - bv. telefonisch: “uitslag is positief”'oh fijn voor hem'
 - (NB echt gebeurd !)
-

Drugs Of Abuse

RICHARD NIXON

XXXVII President of the United States: 1969-1974

203 - Special Message to the Congress on Drug Abuse Prevention and Control.
June 17, 1971

- The War on Drugs begon,
- dit leidde tot astronomische aantallen monsters op labs.. Maar ook ernstige consequenties

Relativering:

In the 1960s, as drugs became symbols of youthful rebellion, social upheaval, and political dissent,.....

WorkPlace DrugtesTing,

maakt het nog ernstiger

RONALD REAGAN

XL President of the United States: 1981-1989

Executive Order 12564 - Drug-Free Federal Workplace

September 15, 1986

Sec. 3. Drug Testing Programs.

- a)The head of each Executive agency shall establish a program to test for
- b)the use of illegal drugs by employees in sensitive positions.

d.w.z. zittende ambtenaren en alle sollicitanten.

The presidency of Ronald Reagan marked the start of a long period of skyrocketing rates of incarceration, largely thanks to his unprecedented expansion of the drug war. The number of people behind bars for nonviolent drug law offenses increased from 50,000 in 1980 to over 400,000 by 1997.

Uitvoerings guidelines voor WPDT

DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES

Substance Abuse and Mental Health Services Administration Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Programs

AGENCY: Substance Abuse and Mental Health Services Administration, HHS.

ACTION : Revised **Mandatory**(*) Guidelines

Meeste recente versie:

Ref: Federal Register / Vol. 73, No. 228 / Tuesday, November 25, 2008 / Notices

*) mandatory: d.w.z. voor het testen van USA ambtenaren.

Europese regels

European Laboratory Guidelines for Legally Defensible Workplace Drug Testing (vs 1.0 © EWDTS 2002)

Titel geeft aan dat het feitelijk Forensische toxicologie is (geworden).

Met alle verantwoordelijkheden van dien.

EWDTS Guidelines Committee:

- L.J. Mostert, The Netherlands, Chair
 - S. Suominen, Finland, Secretary
 - O. Beck, Sweden
 - L. Hadfield, representative of UK Steering Group
 - C. Fernandez, Spain
 - G. Kauert, Germany
-

Wat behelzen de guidelines? bv Europese versie

- 1) General
- 2) Specimen collection
- 3) Laboratory Organisation
- 4) Laboratory Analysis Procedures
- 5) Quality Assurance and Quality Control
- 6) Challenges to Drug Test Results
- 7) Interpretation of Results
- 8) Definitions

- Appendix A **Urine Collection** Procedures
 - Appendix B Example of a Donor's Statement of **Informed Consent**
 - Appendix C Some examples of flaws in the **Chain of Custody**
 - Appendix D **Acceptable Screening Techniques**
 - Appendix E Recommended maximum **cut-off concentrations for Screening** Tests
 - Appendix F Recommended **cut-off concentrations for confirmation** tests
 - Appendix G Medical Review
-

Wat is nu relevant voor EQAS / rondzendonderzoeken?

- Hier hebben we het dus m.n. over de analytische correctheid.
 - Wat is correct? Het antwoord op de vraag:
 - Heeft de persoon een/de drug gebruikt?
 - Vertaald naar:**
 - c.q. is de drug(-marker) in de urine aanwezig?
 - Hoe wordt dat bepaald? Hoe betrouwbaar?**
-

De Eur. Guidelines Par. 4.7:

4.7

Standardisation of screen assays

4.7.1

All assays must be **calibrated against appropriate standards**, following laboratory protocols based on the manufacturer's recommendations.

4.7.2

Where the assay has significant **cross-reactivity** to related compounds the assay must be calibrated against one named compound, and **where necessary the sensitivity to other compounds must be determined**.

4.7.3

The **customer must be informed** of the expected sensitivity to these compounds.

□ b.v. benzoylecgonine voor cocaïne.

□ b.v. oxazepam/nitrazepam voor alle benzodiazepines.

□ b.v. codeine versus de calibrator morfine.

Wat is het analytische principe?

- Door de enorme aantallen monsters die vaak in (USA) labs passeren was, m.n. in het begin jaren 80 vd 20st eeuw **Immuno Assay de enige realistische mogelijkheid** qua levertijd en prijs.
 - Door de kans op mogelijke kruisreacties stellen de guidelines:
 - **Eur. Guidelines par. 4.8.1:**
 - The presence of the drugs indicated by a **positive screen result**
 - **must be confirmed** using a chromatographic technique in combination with mass spectrometry (e.g. GC/MS, LC/MS).
 - All confirmations must be quantitative. (want ook hier cutoffs)
-

Screen Test

Euro Cut-Off Concentration (µg/L)

Amphetamine group	500		Uit: Eur. Guidelines
MDMA	–	(500)	EWDTS 2002
Benzodiazepines group	200		
Cannabis metabolites	50		
Cocaine metabolites	300	(150)	Tussen haakjes event.
Opiates (total)	300	(2000)	Afwijkende
6-MAM	–	(10)	USA waarde.
Methadone or metabolites	300	(-) *	Nov. 2008
Barbiturates	200		
Phencyclidine	25		N.B. methadon moet
Buprenorphine or metab.	5	(-)	meestal juist wel positief zijn.
LSD or metabolites	1	(-)	Lagere cutoff kan dus
Propoxyphene or metab.	300	(-)	wenselijk zijn
Methaqualone	300	(-)	

Afgeleide doel van het lab:

Rapporteren of een testresultaat:

- $<$ cutoff....dan negatief
- $=$ of $>$ cutoff.....dan positief

*Positive Result. The result reported by an HHS-certified laboratory when a specimen contains a drug or drug metabolite **equal to or greater than** the cutoff concentration.*

Kortom: een makkie.....Toch?

Positief wil zeggen:

- In geval van “opiaten” is het immuno-signaal hoger* dan dat van 300 µg/L morfine.
- Bij “cocaïne” hoger* dan dat van 300µg/L benzoylecgonine.
- Bij “cannabis”* hoger dan 50 µg/L THCCOOH
-Etc.
- N.B. dit is vrijwel altijd een meng-signaal van kruis reagerende stoffen.

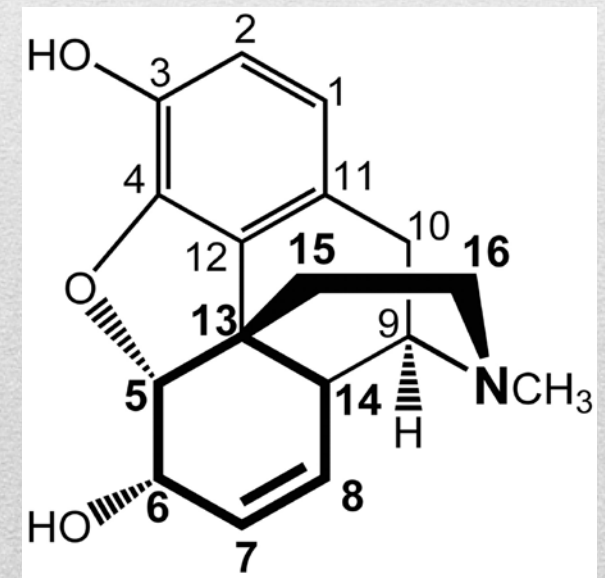
*) of gelijk aan.

Kruisreagerende stoffen:

- Morfine is hier de modelstof voor alle opiaten.
- Het is metaboliet van en 6-monoacetylmorfine (6MAM) en dus de secundaire metaboliet van heroïne.
- maar ook een metaboliet van codeïne. Maar ook structuur analogen kunnen kruisreageren. (b.v. oxycodon).
- En afhankelijk van het anti lichaam of de glucuronides ook kruis-regageren.



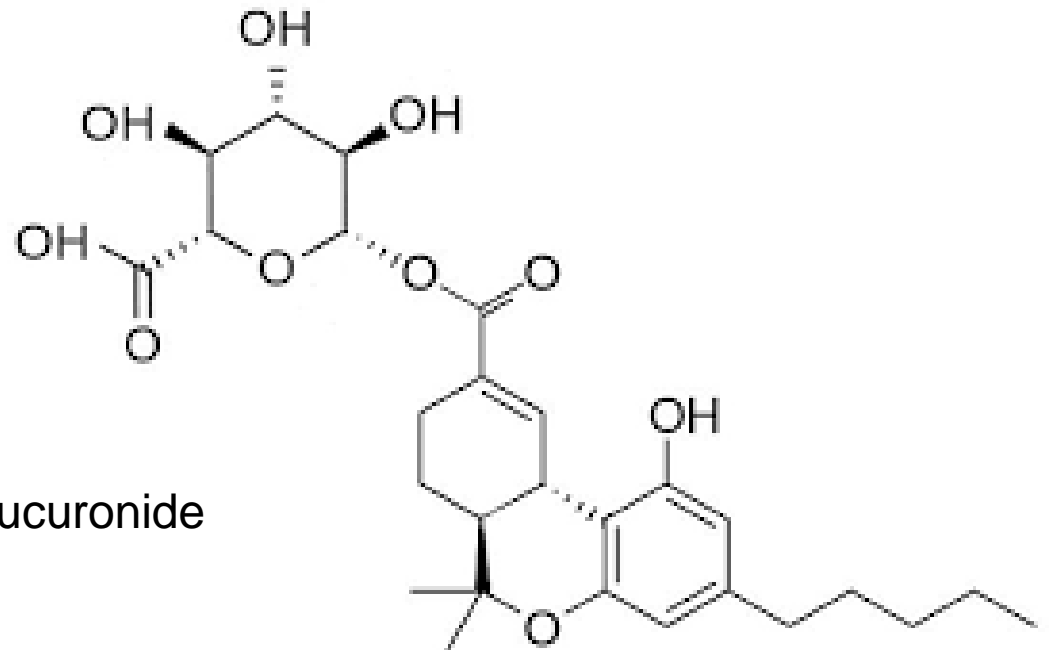
morfine



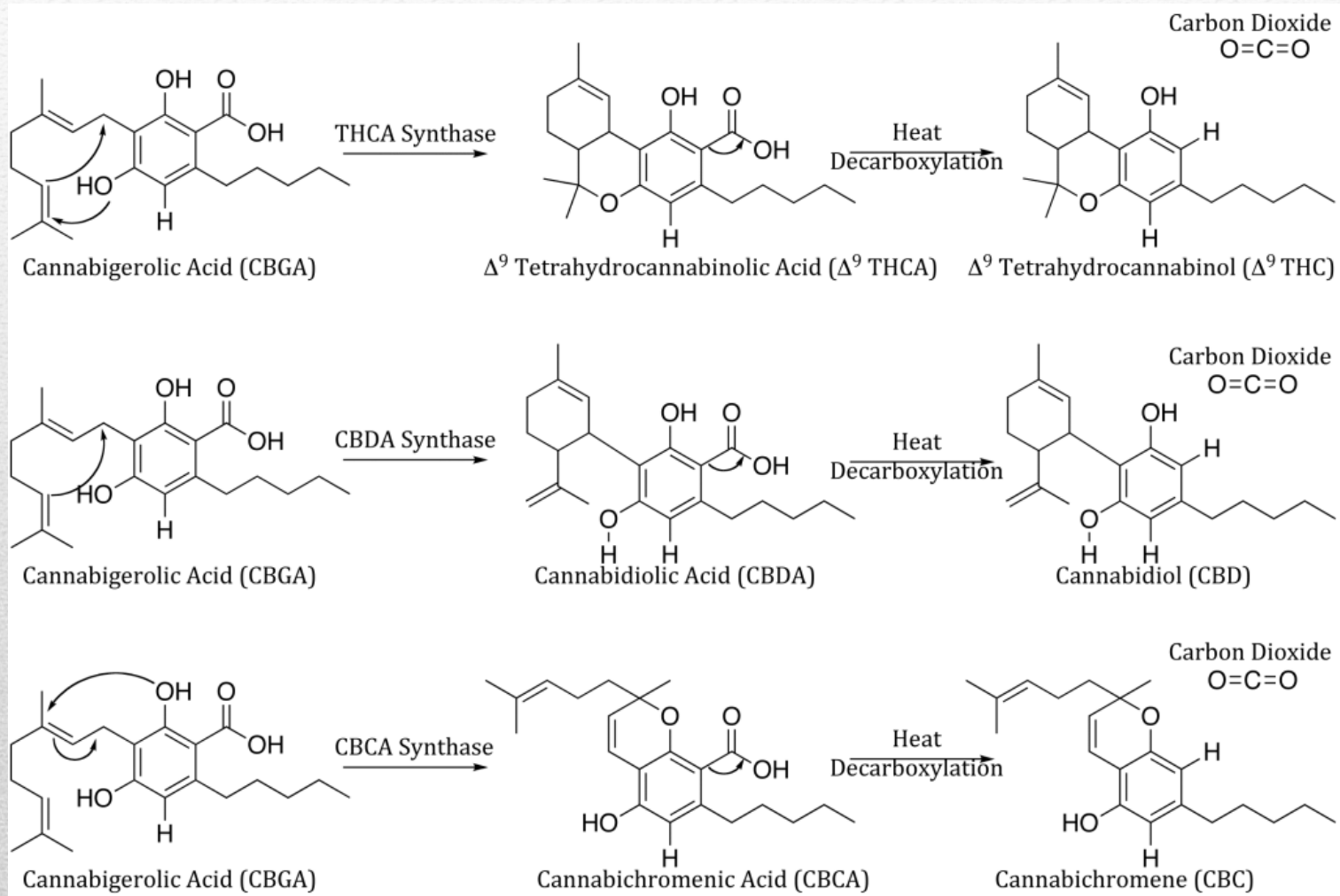


Cannabis hars
"Vers bij de Teler"

(+)-11-Nor- Δ^9 -THC-9-carboxylic acid glucuronide



De belangrijkste natuurlijke cannabis inhoudsstoffen.....
.....en dan nog de metabolieten en (metaboliet-)conjugaten.



Kruisreagerende stoffen v.v:

- Cannabis:

- groot aantal potentieel kruis reagerende stoffen uit de plant
- een veelvoud aan metabolieten hiervan en hun glucuronides:

- TCRC's** (total cross reacting cannabonoids.)

- Daarom cutoff bij bevestiging zoveel lager dan bij immuno assay:

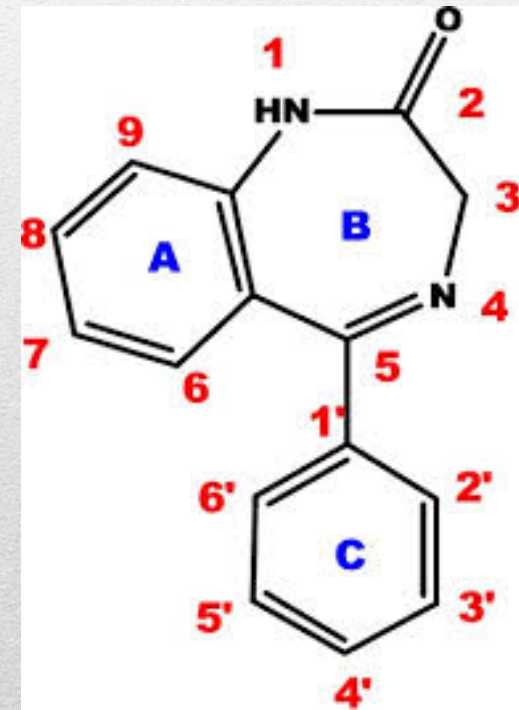
15 µg/L THCCOOH i.p.v. 50 µg/L aan TCRC.

...en dan de benzodiazepines

Benzodiazepines: grote groep stoffen maar allemaal relevant.

- Sterk variërende doseringen/spiegel
- ieder stof heeft zijn metabolieten en conjugaten.
- de metabolieten zijn vaak ook identiek
- aan een moederstof.

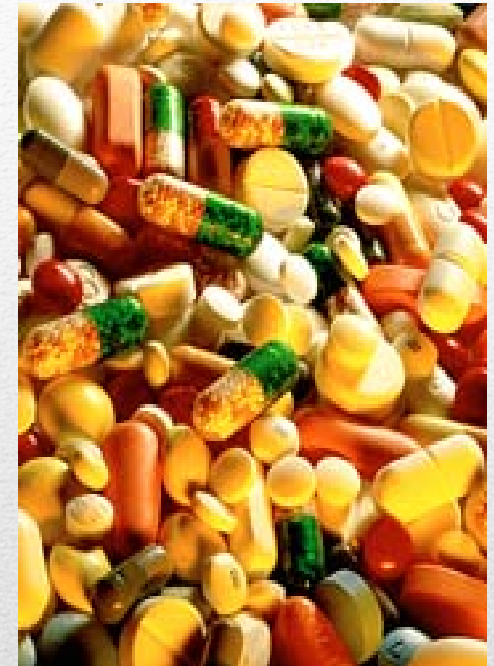
Benzodiazepine basisskelet



Zeer diverse plasma spiegels...

...dus ook uiteenlopende urine concentraties

Stof:	µg/L plasma-concentratie:	Merksnaam: ®
alprazolam		XANAX
bromazepam		LEXOTANIL
brotizolam		LENDORMIN
chloordiazepoxide		LIBRIUM
clobazam	700-2000	FRISIUM
clorazepinezuur		TRANXENE
diazepam	zie:nordazepam	STESOLID, VALIUM
flunitrazepam		ROHYPNOL
flurazepam	10-15	DALMADORM
ketazolam	>150 (d.a.-metab.)	UNAKALM
loprazolam		DORMONOCT
lorazepam		TEMESTA
lormetazepam		LORAMET, NOCTAMID
medazepam		NOBRIUM o.a.
midazolam		DORMICUM
nitrazepam		MOGADON
nordazepam	30-120	CALMDAY
oxazepam	200-800	SERESTA
prazepam		REAPAM
temazepam	1000-2000	NORMISON, NORMITAB
triazolam		HALCION



Resultaten KKGTT-D0A

Test 2015-1B: morfine 2025 µg/L (ethanol 0,816 g/L)

OPIATEN; cal. morfine 6,75x cutoff (300 µg/L)

Imm. Assay:

POS 69 3x > 2000; 7x > 1000; 1x > 600

NEG 1

N.T. 3

22x van de 73 een getal gerapporteerd:

gemidd. 1807 µg/L (89%)

SD = 290 (14%)

Range: 1174 – 2355 µg/L (58%-116%)

Resultaten KKGTT-DOA

Test 2013-4A: morfine 292 µg/L (benz. ecg. 310 µg/L)

OPIATEN; cal. morfine 0,97x cutoff (300 µg/L)

Imm. Assay:

<input type="checkbox"/> POS	33	2x >300
<input type="checkbox"/> NEG	36	
<input type="checkbox"/> N.T.	4	

35x van de 73 een getal gerapporteerd:

<input type="checkbox"/> gemidd.	299 µg/L (102%)
<input type="checkbox"/> SD =	32 (11 %)
<input type="checkbox"/> Range:	234 – 369 µg/L (80% – 126%)

Resultaten KKGT-D0A

Test 2013-3B: codeïne 637 µg/L (pentobarb. 2022 µg/L)

OPIATEN; N.B. calibrator morfine, 2,1x cutoff (300 µg/L)

Imm. Assay:

POS 66 2x > 2000; 9x >1000; 2x > 300.

NEG 3

N.T. 2

21x van de 71 een getal gerapporteerd:

gemidd. 925 µg/L (145 %)

SD = 239 (38 %)

Range: 632 – 3277 µg/L (99 % – 514%)

Resultaten KKGT-D0A

Test 2015-1A: THCCOOH 403 µg/L (buprenorfine 53,6 µg/L)

CANNABIS; calibrator THCCOOH cutoff 50 µg/L

Imm Assay:

POS **71** (>75; 100; >200; >300)

NEG **1**

N.T. **1**

22x van de 73 een getal gerapporteerd:

gemidd. 308 µg/L (76 %)

SD = 205 (51 %)

Range: 93 – 1121 µg/L (23 % – 278 %)

Resultaten KKGT-DOA

Test 2014-4B: THCCOOH 76,5 µg/L (MDMA 1287 µg/L)

CANNABIS; calibrator THCCOOH cutoff 50 µg/L

Imm Assay:

<input type="checkbox"/> POS	61
<input type="checkbox"/> NEG	10
<input type="checkbox"/> N.T.	1

34x van de 72 een getal gerapporteerd:

<input type="checkbox"/> gemidd.	66 µg/L (86 %)
<input type="checkbox"/> SD =	19 (29 %)
<input type="checkbox"/> Range:	0 – 103 µg/L (0 % – 135 %)

Resultaten KKGT-D0A

Test 2014-1B: THCCOOH 81 µg/L (MDEA 1446 µg/L)

CANNABIS; calibrator THCCOOH cutoff 50 µg/L

Imm Assay:

POS 48

NEG 18

N.T. 1

35x van de 67 een getal gerapporteerd:

Gemidd. 56 µg/L (69 %)

SD = 12 (15 %)

Range: 26 – 84 µg/L (32 % – 104 %)

Resultaten KKGT-DOA

Test 2014-4A: oxazepam 604 µg/L (amfetamine 1198 µg/L)

□ BENZO's; calibrator **wisselend** cutoff 200 µg/L

□ Imm Assay:

□ POS 46

□ NEG 18 (waarvan 16x type 6; 2x instrumenteel!)

□ N.T. 8

□ 26x van de 72 een getal gerapporteerd:

□ Gemidd. 593 µg/L (98 %)

□ SD = 100 (17 %)

□ Range: <7 – 807 µg/L (0,6 % – 134 %)

Resultaten KKGT-D0A

Test 2013-2B: nitrazepam 205 µg/L (methadon 1521 µg/L)

□ BENZO's; calibrator **wisselend** cutoff 200 µg/L

□ Imm Assay:

□ POS **26** waarvan 11 type 6

□ NEG **36** waarvan 16 type 6

□ N.T. 7

□ 28x van de 69 een getal gerapporteerd:

□ Gemidd. 197 µg/L (96 %)

□ SD = 52 (25 %)

□ Range: 105 – 284 µg/L (51 % – 138 %)

Is dit ernstig verkeerd of inherent aan testsysteem????

Amfetamine achtige stoffen

- Verschillende test types:
 - “Amfetamine”
 - Amfetamine achtige”
 - “Metamfetamine” (2014-4B sterke kruisreactie met MDMA)*
 - Soms Combinatie van antilichamen in één reagens.
 - En natuurlijk onderlinge kruisreacties.
 - * Hoe rapporteren??
-

Verdere Aandachtspunten

- Methadon / EDDP (weinig/geen kruisreactie)
 - Prima. Maar Cave bij vergelijkingen
 - GHB zelden getest
 - (2013-4B: 16/73, 2014-1A: 17/67 labs)
 - Waarom rapporteren labs TCA-testen en paracetamol ???
 - Heel weinig confirmaties (ca. 8 labs)
 - (is dat erg? Op zich niet, maar ga niet te ver in conclusies!)
-

D0A testen

verstand gebruiken,

□ Bij rapportage en

interpretatie op basis

van uitsluitend

Dank U voor uw aandacht
