

Kvantitative Cannabis analyser i urin – hvornår og hvorfor?



Torben Breindahl
Hospitalskemiker, cand. scient.
Klinisk Biokemisk Afdeling,
Sygehus Vendsyssel

Kroniske misbrugere af Cannabis kan med fordel monitoreres under afvænningen, hvor urinprøver kan være positive i over en måned efter misbrugets ophør. Ved at følge udskillelsen af en specifik metabolit koncentration, korregeret for urinens fortyndingsgrad, kan behandlere sikre sig at rygningen ikke genoptages. Det viser sig også, at den testede borger finder stor inspiration i at følge resultatet af detoksificeringen. Nyere matematiske modeller gør det desuden mere sikkert at skelne nylig Cannabis rygning fra forlænget udskillelse af ophobede metabolitter hos kroniske misbrugere.

Baggrund

Cannabis er et af de hyppigst benyttede rusmidler og nyere undersøgelser viser at omkring en femtedel af de europæiske befolkninger på et tidspunkt har røget Cannabis. Analyser af cannabinoider har i tidens løb givet laboratorier store analytiske udfordringer, både i forbindelse med den praktiske udførelse og tolkningen af resultater. Det skyldes bl.a. at de meget lipofile cannabinoider ophobes i fedtvævet i kroniske misbrugere. Ved urinanalyser påvises den inaktive metabolit 11-nor- Δ^9 -tetrahydrocannabinol-9-carboxylsyre, også benævnt carboxy-THC eller THC-COOH. Efter rygestop frigives stofferne langsomt til blodbanen. Derfor er det svært at estimere påvisningstiden efter Cannabis misbrug, som kan variere fra dage til flere uger, alt afhængig af misbrugets karakter og hyppighed. For kroniske misbrugere kan THC-COOH således måles i blod og urin lang tid efter at personen har misbrugt eller været påvirket af rusmidlet.

Kvantitative målinger

Litteraturstudier har vist, at hvis koncentrationen af THC-COOH korrigeres for urinens fortyndingsgrad (divideres med U-creatinin) kan der konstrueres en udskillelseskurve, hvis forløb i hvert individuelt tilfælde kan bruges som basis for at vurdere

om personen er abstinerende. I det følgende omtales denne værdi som THC-COOH / CREA, underforstået at det er urinkoncentrationer. Det kræver en kvantitativ måling af THC-COOH i urin med f.eks. gaskromatografi/massespektrometri (GC-MS) eller væskrokromatografi/tandem massespektrometri (LC-MS/MS).¹

Hurtigttests med immunkemisk princip eller diverse 'point-of-care-testing' anvendes også til testning for Cannabis misbrug, men der findes ingen dokumentation for at resultaterne kan bruges til en sikker vurdering af om den testede har genoptaget sit misbrug.² Årsagen hertil er blandt andet krydsreaktioner fra de mange forskellige Cannabis metabolitter (glucuroniderede og frie koncentrationer), der gør det vanskeligt at anvende en immunkemisk metode kvantitativt. Endvidere skal en nøjagtig bestemt U-creatinin (talværdi) være tilgængelig, hvilket ikke er tilfældet ved brug af hurtigttests.³

Modeller for tolkning

Som ved alle modeller for biomarkører er der altid en vis risiko for falsk positive eller negative fortolkninger. Tidligere modeller for Cannabis anvendte en regel, hvor en 50% stigning i THC-COOH / CREA blev tolket som sikker indikation for genoptaget Cannabis misbrug. Det medførte dog falsk positive fortolkninger af data, især i slutningen af forløbet med meget lave THC-COOH / CREA værdier, hvor udskillelsen af THC-COOH kan fluktuere en smule. I forbindelse hermed er det stadig uklart hvorvidt fysisk aktivitet, sygdom, kostvaner og andre fysiologiske parametre påvirker frigivelsen af restmængder af cannabinoider fra fedtvæv til blod/urin.

I 2010 publicerede en amerikansk ekspertgruppe (Schwilke et al.) en ny, valideret matematisk model, som på basis af to målepunkter kan benyttes til vurdering af abstinens.⁴ Modellen anvendes først for at sikre, at der er tale om abstinens, ved en beregning hvor visse forudsætninger skal

være opfyldte. Herefter benyttes det første "sikre" målepunkt for abstinens i sammenligning med den nyeste måling. Modellen forudsiger forløbet af en eksponentielt aftagende kurve som funktion af tiden med parametre, der afhænger af udgangsværdien. Rent praktisk beregner man den øvre tærskel koncentration, der skelner mellem genoptaget misbrug og abstinens, vel at mærke med mulighed for at benytte fire forskellige sandsynlighedsfaktorer (fra 80 % til 99%). Det anbefales generelt at man tager urinprøver med mindst tre dages interval.

Cannabis screeninger verificeres

Ved Sygehus Vendsyssel verificeres alle 'potentielt positive' immunkemiske screeninger med kromatografi og massespektrometri. Hermed foreligger der altid en kvantitativ bestemmelse af THC-COOH i urinprøven for alle positive Cannabis-svar. Da creatinin alligevel måles i alle misbrugsprøver, som led i den almindelige undersøgelse for prøvens validitet, er det forholdsvis simpelt at lade laboratoriets edb-system beregne og rapportere en creatinin-korrigeret (normaliseret) THC-COOH værdi. Man kan diskutere hvilken enhed man bør benytte, for der er ikke tradition for at bruge molære

enheder ved narkotikaanalyser. Vi benytter enheden 'ng/μmol', da det passer overens med at de lavest rapporterede værdier ligger i området 2-6. Det gælder når vi samtidig anvender 50 ng/ml som 'cut-off' værdi for immunkemisk Cannabis screening med EMIT II Plus (Siemens). Prøver med respons under 'cut-off' rapporteres som negative, hvilket er i overensstemmelse med anerkendt praksis, herunder også med EU-retningslinjer for rusmiddeltestning på arbejdspladser.

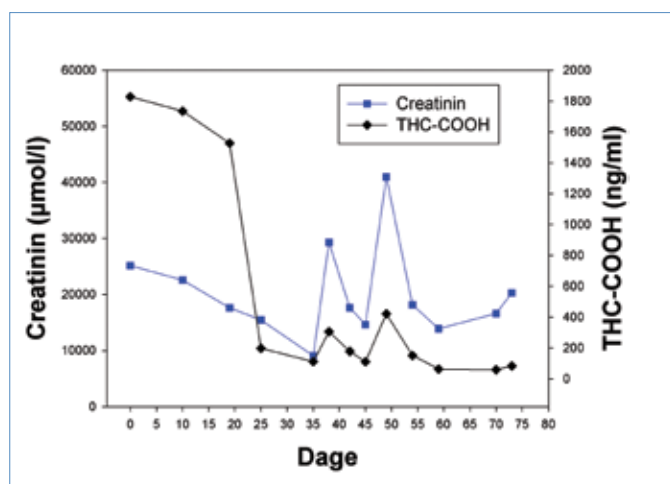
Feedback fra rekvirenter og patienter

Sygehus Vendsyssel har indledt et samarbejde med behandlingscentre i Region Nord, hvor vi vil undersøge hvordan den matematiske model for THC-COOH/CREA bedst kan anvendes i rutinen. Det kræver at man ser nærmere på de grænsetilfælde, hvor 50% reglen og/eller den matematiske model viser at den testede har genoptaget misbruget og sammenholder det med de testedes egne udsagn. Til dette formål har vi udarbejdet et regneark til nem indtastning af de aktuelle værdier: THC-COOH, creatinin og datoer for prøvetagninger. Det er meget interessant at notere, at de testede personer i flere tilfælde har givet meget

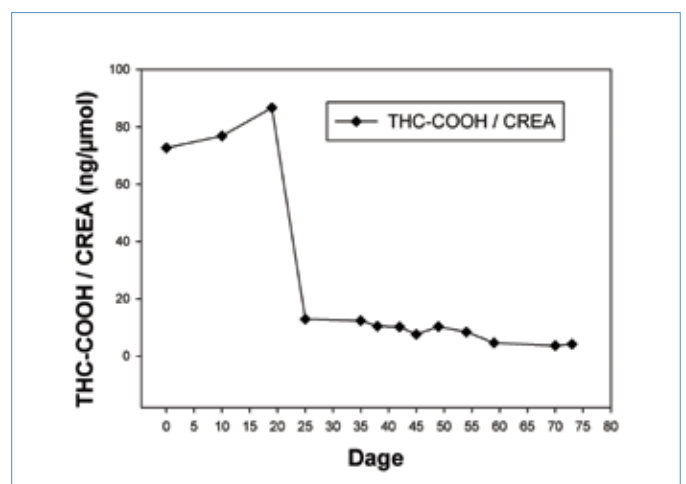
positiv feedback på urinalyserne og givet udtrykt for at det er en motiverende faktor at følge de dalende THC-COOH/CREA værdier, som evidens for at det går den rigtige vej i behandlingsforløbet. Derfor er det også vigtigt for tillidsforholdet mellem borger og behandler, at naturlige fluktuationer i THC-COOH/CREA ikke giver anledning til fejltolkninger. Der findes så vidt vides ingen publikationer om afprøvning af Schwilkes matematiske model i et behandlingsmiljø med kroniske misbrugere.

Brug i rutinen

Vi har rapporteret THC-COOH/CREA i rutineanalyser siden 2009 og er nu begyndt at bruge Schwilke's matematiske model ved telefonsupport. De laboratorier, der tester Cannabis misbrugere i behandling og bruger hurtigttests, kan risikere en lang række trivielt positive svar, som ikke kan vurderes i forhold til om den testede er abstinerende. Resultatet kan også skifte uventet fra negativt til positivt og visa versa, alt afhængigt af urinens fortyndingsgrad. Ved brug af THC-COOH/CREA værdier har man derimod et langt bedre redskab til rådighed. Vi vil ikke påstå at denne strategi har forebyggende virkning i selve behand-



Figur 1: Plot af U-THC-COOH (ng/ml) og U-creatinin (μmol/l) for en kronisk Cannabismisbruger under abstinens. Det ses tydeligt at variationer i U-THC-COOH følger forløbet af U-creatinin.



Figur 2: Her er U-THC-COOH data fra Figur 1 "normaliseret" (korrigeret) for U-creatinin. Det bratte fald i THC-COOH/CREA ses typisk ved ophør af misbrug, hvorefter restkoncentrationer fra fedtvævet udskilles langsomt.

lingsforløbet for misbrugere. Dog ved vi at de lange (teoretisk mulige) påvisningstider for Cannabis-analyser forsøges anvendt til at bortforklare positive resultater, som reelt skyldes at misbruget ikke er ophørt.

Case 1

En kronisk Cannabis misbruger blev monitoreret med i alt 13 urinanalyser i en periode på 75 dage. I figur 1 ses det tydeligt at koncentrationen af THC-COOH følger urinens fortyndingsgrad. En stigning eller et fald i THC-COOH koncentration kan derfor ikke fortolkes i forhold til misbrug/abstinens. I figur 2 ses den normaliserede, creatinin-korrigerede værdi af THC-COOH, hvorved det ikke blot afsløres at misbruget først ophørte omkring dag 20, men også at den testede fortløbende kun udskilte restkoncentrationer. Den reelle detoksifikationsperiode er derfor ca. 50 dage, i hvilken den testede ifølge laboratorieresultaterne og eget udsagn var abstinent. Herefter blev urinprøver screenet negative.

Case 2

En kronisk Cannabis misbruger blev fulgt i en periode på 77 dage med 18 urinanalyser af THC-COOH/CREA (se figur 3). Efter dag 35 ophørte misbruget, men spørgsmålet var om rygningen blev genoptaget i perioden, idet der kunne observeres stigninger i dagene 43-46 og 53-56. Schwilkes model forudsiger 'new use' ved dag 56, men misbrug kan ikke bekræftes ved dag 46, da målepunktet ved dag 37 (forrige punkt) er udenfor modellens område. Her har den

testede dog selv bekræftet rygning. Passiv rygning har ingen indflydelse, da optagelsen af cannabinoider her er meget lav. Hvis en misbruger genoptager daglig rygning af Cannabis og fortsætter, vil man observere en kraftig stigning som vist i figur 4.

Konklusion

Vi kan konkludere, at rekvirenter af Cannabis analyser har gode muligheder for at følge en misbruger på vej under behandlingen og at det samtidig - til en vis grad - er muligt at skelne genoptaget misbrug undervejs. Schwilkes matematiske model er i øjeblikket det bedste bud på hvorledes man postanalytisk fortolker analyseresultater med henblik på at afgøre om den testede er fuldt ud abstinerende under afvænningsperioden fra Cannabis misbrug. Fejltolkninger af misbrugsanalyser udgør generelt en stor risiko for patientsikkerheden, idet resultatet kan medføre alvorlige konsekvenser eller sanktioner for den testede f.eks. i form af udelukkelse for forældremyndighed, samkvemsret med børn, udgang fra fængsler samt adgang til behandling, botilbud, uddannelse og arbejde. I forbindelse hermed kan kvantitativ monitorering af THC-COOH/CREA bidrage til en mere sikker og meningsfyldt udførelse af analyser for Cannabis misbrug.

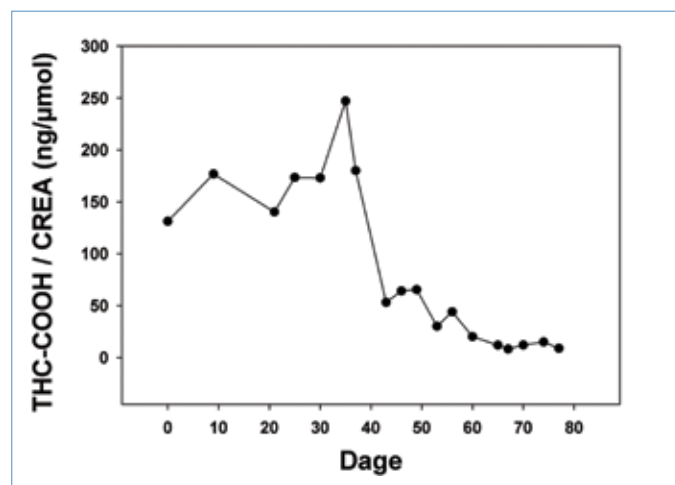
Referencer

[1] I 1999 publicerede Sygehus Vendsyssel den første LC-MS analysemetode for THC-COOH i urin, da single-kvadrupol apparatur var blevet en rutineteknik, se Breindahl T, Andreasen K, Determination of 11-nor- Δ^9 -tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid in urine using high-performance liquid chromatography and electrospray ionization mass spectrometry, J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl, 1999, 732; 155-164

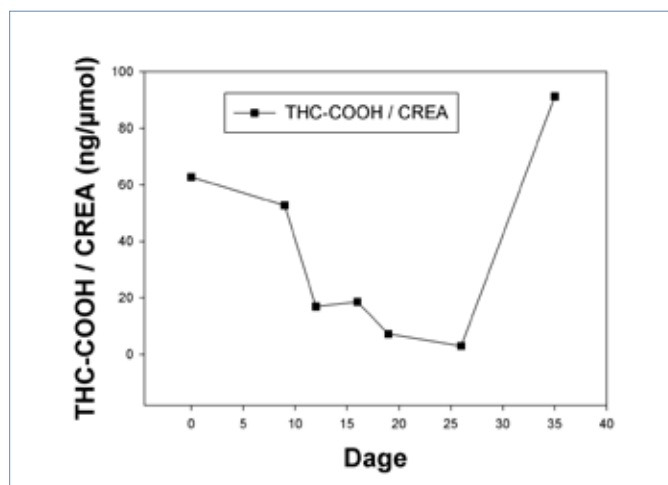
[2] Hurtigttests markedsføres med forskellig 'cut-off' for tetrahydrocannabinoler (THC), så brugeren angiveligt kan monitorere 'niveauet'. Det giver dog ikke mening i forhold til at vurdere om misbruget er ophørt, hvis ikke der er en nøjagtig bestemt U-creatinin værdi tilgængelig (se figur 1).

[3] U-creatinin varierer typisk en faktor 80 i det område man betragter som validt til misbrugstestning. Hvis urinstix anvendes til bestemmelse af creatinin, arbejder man i grove intervaller, hvilket ikke kan benyttes til at konstruere udskillelseskurver for THC-COOH. Det kræver præcise og nøjagtige metoder for både creatinin og THC-COOH.

[4] Schwilke et al. Differentiating new cannabis use from residual urinary cannabinoid excretion in chronic, daily cannabis users, Addiction, 2010, 106, 499-506



Figur 3: Her ses et mere kompliceret forløb af THC-COOH/CREA, hvor misbruget er genoptaget under afvænningsperioden. Patienten ender med at blive testet negativ ved dag 77.



Figur 4: Kurven illustrerer en misbruger, der genoptager Cannabis rygning, hvorved der ses en kraftig stigning i THC-COOH/CREA.