

Praca poglądowa • Review Article

Zalety i wady szybkich testów, czyli jak oznaczać narkotyki w laboratorium medycznym?

Advantages and disadvantages of rapid tests, how to determine drugs of abuse in medical laboratory?

Ewa Gomółka^{1,2}, Agnieszka Morawska^{1,2}

¹ Pracownia Toksykologii Analitycznej i Terapii Monitorowanej, Katedra Toksykologii i Chorób Środowiskowych, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum, Kraków, ² Pracownia Toksykologii, Zakład Diagnostyki, Szpital Uniwersytecki Kraków

Streszczenie

Narkotyki to związki psychoaktywne w większości objęte kontrolą prawną. Substancje te często oznaczane są w laboratoriach medycznych, do czego zachęca szeroka oferta dostępnych na rynku narkotestów. Narkotesty posiadają jednak szereg ograniczeń i nie gwarantują 100% wiarygodności wyniku. Diagnosta autoryzujący wynik powinien posiadać wiedzę na temat wszystkich aspektów związanych z wykonywaniem tego rodzaju badań. Istotne są kwestie dotyczące fazy przedanalizycznej (pobranie, transport przechowywanie materiału biologicznego), analitycznej (czułość i specyficzność testów, kontrola jakości testów, wykonywanie badań potwierdzających) oraz postanalizycznej (interpretacja kliniczna oraz prawna). Wymienione kwestie posiadają różną wagę w zależności od tego, czy oznaczenie jest prowadzone dla potrzeb diagnostyki zatruć ostrych, badania abstynencji osób uzależnionych, czy na zlecenie podmiotów prywatnych.

W naszym kraju w chwili obecnej nie ma jednolitych standardów oznaczania narkotyków w laboratoriach medycznych. Dystrybutorzy narkotestów zwykle nie dołączają żadnych kontroli do zestawów, co jednak nie powinno zwalniać z obowiązku ich prowadzenia. Niektórzy producenci zalecają wykonywanie badań potwierdzających dla wszystkich wyników pozytywnych oraz wątpliwych. Dobrą praktyką powinno być dołączanie do wyniku komentarza z informacją o czułości testu, oraz substancjach (lekach, suplementach), które mogą być przyczyną interferencji. Diagnosta autoryzujący wynik oznaczeń narkotyków musi zdawać sobie sprawę nie tylko z wagi diagnostycznej wyniku ale też odpowiedzialności prawnej.

Summary

Drugs of abuse are psychoactive substances, most of them are under low control. The substances are determined in biological fluids in many clinical laboratories; there are many offers of rapid tests for non-instrumental immunoassays on the market. The tests have some limitations and they do not guarantee 100% reliability of results. Analyst should be conscious of the limitations and should know all information about the determination. The pre-analytic phase (collecting, transport, storing samples), analytic phase (sensitivity, specificity, quality control, confirmation tests), and post-analytic phase (medical and law interpretation) are important. The aspects differ in significance depending on the purpose of determination: diagnostics of acute poisoning, abstinence control or for private customers.

There aren't any regulations of drugs of abuse determinations in clinical laboratories in Poland. Rapid tests offered in our country differ in sensitivity and specificity, and it is impossible to compare the test results performed in different laboratories. No control solutions are joined to the tests, but the laboratories shouldn't abandon the controls to perform. Some producers suggest to make confirmation test for all positive and uncertain results. There is no possibility to perform the confirmation tests in clinical laboratories, because of the lack of reference methods (gas chromatography, high performance liquid chromatography). The physicians should be informed about substances interfering the results (drugs, supplements and others). The analyst must realize all the medical and law consequences of the results of drugs of abuse determinations.

Słowa kluczowe: szybki test immunologiczny, oznaczanie narkotyków w moczu

Key words: rapid test, urine determination of drugs of abuse

Wstęp

Zwiększone zapotrzebowanie na oznaczanie narkotyków w laboratoriach medycznych jest spowodowane rosnącą liczbą

ostrych zatruć tymi substancjami, a także aktywną działalnością jednostek prowadzących programy substytucyjne dla osób uzależnionych od narkotyków. Jednym z warunków

uczestnictwa w terapii substytucyjnej jest okresowa kontrola moczu pacjentów pod kątem obecności substancji psychoaktywnych [5, 7, 14]. Ponadto w ostatnich latach, wzorem krajów zachodnich, pojawiło się zainteresowanie oznaczaniem narkotyków wśród pracowników, sportowców czy uczniów [6, 11, 17].

Przez szereg lat oznaczenia substancji psychoaktywnych były domeną specjalistycznych laboratoriów toksykologicznych. Dysponują one metodami umożliwiającymi identyfikację substancji w materiale biologicznym, takimi jak chromatografia cieczowa sprzężona ze spektrometrią mas (LC-MS), chromatografia gazowa sprzężona ze spektrometrią mas (GC-MS), wysokorozdzielcza spektrometria mas (MALDI-TOF-TOF) [9, 13, 17].

W chwili obecnej badania narkotyków wykonywane są w wielu laboratoriach medycznych o profilu ogólnym. Niewątpliwie zachętą dla tych placówek jest szeroka oferta dostępnych na rynku narkotestów – szybkich, tanich i prostych w wykonaniu. Pierwsze szybkie testy do oznaczania substancji psychoaktywnych w płynach ustrojowych powstały w latach 80 ubiegłego wieku, jednak ich specyficzność pozostawiała wiele do życzenia [6]. Współczesne kasetowe testy immunochemiczne są znacznie doskonalsze niż ich poprzednicy, jednak producentom wciąż nie udało się wyeliminować ich niskiej specyficzności. Dlatego oznaczenia wykonywane przy ich pomocy mają charakter badań przesiewowych, a wyniki wątpliwe powinny być weryfikowane w laboratoriach toksykologicznych dysponujących metodami referencyjnymi [1, 13, 16, 20]. Diagnosta laboratoryjny podejmujący się oznaczeń narkotyków za pomocą szybkich testów powinien posiadać specjalistyczną wiedzę z zakresu toksykologii i zdawać sobie sprawę z wagi wyniku. Oznaczane szybkimi testami narkotyki i leki to silnie działające substancje, które mogą być przyczyną ciężkich zatruc i uzależnień. Niektóre z nich wykorzystywane są w celu ułatwiania przestępstw na tle seksualnym i rabunkowym, co pociąga za sobą zaangażowanie policji i sądu. Analityk powinien wiedzieć, że grupowy charakter oznaczeń nie pozwala na odróżnienie badanego analitu od substancji pochodnych, posiadających zbliżoną budowę, które mogą wchodzić w skład popularnych leków czy suplementów. Wszystko to sprawia, że interpretacja wyniku może przysparzać wielu problemów, a raportowanie wyników pozytywnych, bez uwzględnienia wywiadu lekarskiego, stanu pacjenta, a w uzasadnionych przypadkach wykonania badań potwierdzających może prowadzić do błędów terapeutycznych i mieć konsekwencje medycnoprawne [1, 6, 20]. Należy zwrócić na te aspekty szczególną uwagę i do wyniku dołączać stosowny komentarz informujący, że wynik służy jedynie dla celów diagnostyki medycznej. W poniższej pracy przedstawiono wyniki programu kontroli narkotyków w moczu RIQAS dla kilku rodzajów testów oraz opisano najważniejsze aspekty dotyczące stosowania szybkich testów do oznaczeń narkotyków w laboratoriach medycznych. W pracy korzystano z materiałów opracowanych przez organizację SAMSHA (Substance Abuse & Mental

Health Services Administration) i NIDA (National Institute on Drug Abuse) [1], aktów prawnych (Rozporządzenie w sprawie standardów jakości dla medycznych laboratoriów diagnostycznych, Ustawy o przeciwdziałaniu narkomanii, Ustawy o ruchu drogowym) [2, 3, 4] oraz światowej literatury dotyczącej oznaczania substancji psychoaktywnych w laboratoriach medycznych.

Omówienie wyników międzynarodowej kontroli oznaczeń narkotyków w moczu RIQAS

Pracownia Toksykologii Analitycznej i Terapii Monitorowanej UJ Collegium Medicum w Krakowie uczestniczy w międzynarodowym programie RIQAS, oceniającym wiarygodność metod oznaczania narkotyków w moczu. Ocenie poddano dwie ilościowe metody instrumentalne (FPIA, EMIT) oraz testy kasetowe dwóch różnych producentów. Podsumowanie raportów z wyszczególnieniem odsetka wyników niezgodnych po zakończeniu rocznego cyklu przedstawia Tabela I. Żadna ze stosowanych metod nie osiągnęła stuprocentowej zgodności. Techniki instrumentalne wypadły najlepiej, odsetek niezgodności nie przekraczał 10 %. Ze szczegółowej analizy raportów wynikało, że niezgodności dotyczyły głównie wyników ujemnych w próbach kontrolnych, gdzie stężenia badanych analitów nieznacznie tylko przekraczały wartości cut-off (czułość testu). Praktycznie oznacza to, że rzeczywista czułość testów była niższa niż deklarowana przez producentów.

Tabela I.

Procent niezgodności wyników kontroli narkotyków w moczu dla dwóch metod instrumentalnych (FPIA i EMIT) i testów kasetowych dwóch różnych producentów (na podstawie rocznych raportów międzynarodowej kontroli Randox).

metoda	% wyników fałszywie dodatnich	% wyników fałszywie ujemnych	% niezgodności ogółem
FPIA	0	7,5	7,5
EMIT	3,75	3,75	7,5
test kasetowy 1	0,9	18,4	19,3
test kasetowy 2	12,2	14,4	26,6

Testy kasetowe wypadły dużo gorzej, odsetek niezgodności znacznie przekraczał 10 %, a rozbieżności dotyczyły zarówno kontroli negatywnych jak i pozytywnych. Najmniej wiarygodnie wypadł test kasetowy 2, dla którego prawie co trzeci wynik był fałszywie dodatni lub fałszywie ujemny (26,6 % niezgodności), choć producent testów w dołączonej ulotce gwarantował stuprocentową zgodność z metodą referencyjną (GC-MS).

Przedstawiony raport ilustruje jak zróżnicowana jest wiarygodność różnych testów dostępnych na rynku. Należy się liczyć z tym, że jakość testów może być gorsza od deklarowanej przez producenta, co pociąga za sobą pogorszenie ich klinicznej użyteczności.

Charakterystyka narkotestów

Zakres oznaczeń narkotestów

Dostępne na rynku narkotesty obejmują swoim zakresem podstawowe, klasyczne narkotyki oraz niektóre leki. Należą do nich: amfetamina, kokaina, metamfetamina, ekstazy (MDMA), morfina, opiaty, tetrahydrokanabinoles (THC), metadon, fencyklidyna (mało popularna na polskim rynku narkotykowym), barbiturany, benzodiazepiny i trójcykliczne leki przeciwdepresyjne.

Oczywiście nie są to wszystkie możliwe substancje psychoaktywne, jakie znajdują się na rynku narkotykowym. W nielegalnych laboratoriach ciągle powstają nowe specyfiki, wiele z nich pojawia się lokalnie bądź sezonowo i znika wraz ze zmieniającymi się modami.

Ostatnio dużą popularność wśród młodzieży zyskały tzw. dopalacze (mefedron, pochodne benzylopiiperazyny, syntetyczne kanabinoide i inne). Wciąż aktualny i żywo dyskutowany jest temat tzw. pigulek gwałtu (GHB, flunitrazepam i inne) [8, 12, 19]. Mimo medialnego charakteru tych substancji nie powstały szybkie testy, które pozwoliłyby na ich wykrycie w materiale biologicznym.

Inne środki, które po podaniu drogą doustną, inhalacyjną, donosową lub dożylną działają podobnie do wcześniej wymienionych substancji to: apteczne preparaty medyczne (np. pseudoefedryna, dekstrometorfan, dimenhydrinat), substancje pochodzenia naturalnego (alkaloidy tropanowe zawarte w roślinach: bielun dziędzierzawa, lulek czarny, wilcza jagoda; muscymol i muskaryna zawarte w muchomorze czerwonym; psylocyna i psylocybina zawarte w łysicze lancetowatej), zamienniki produkowane domowym sposobem (np. efedron – produkt utleniania pseudoefedryny), substancje wziewne (rozpuszczalniki, aerozole) [1, 6, 16, 17]. Wymienione substancje mogą być oznaczone wyłącznie metodami chromatograficznymi lub spektrometrycznymi w laboratoriach toksykologicznych [1, 13, 20].

Oznacza to, że dostępny panel oznaczeń narkotestów obejmuje jedynie część stosowanych substancji psychoaktywnych, a ujemny wynik nie oznacza, że pacjent nie jest pod wpływem innego środka (syntetycznego lub naturalnego). W takich wypadkach należy liczyć się z rozbieżnością pomiędzy stanem klinicznym pacjenta, u którego obserwuje się objawy działania narkotyku, a ujemnymi wynikami oznaczeń.

Materiał biologiczny

Wybór odpowiedniego materiału do oznaczenia narkotyków zależy od celu, jakiemu to badanie ma służyć. Mocz jest materiałem najodpowiedniejszym do kontrolowania abstynencji narkotykowej oraz diagnostyki stanów ostrych. Należy pamiętać, że potwierdzenie obecności ksenobiotyku w moczu mówi jedynie o możliwym kontakcie pacjenta z daną substancją w ostatnim czasie i może, ale niekoniecznie musi korelować z jego stanem klinicznym [6, 16, 18, 20]. Natomiast testy do oznaczeń narkotyków w ślinie charakteryzują się dobrą korelacją ze stanem osoby badanej, dlatego stosowane są przez policję do kontroli kierowców w kierunku obecności substancji działających podobnie do alkoholu [6, 15]. Stężenia substancji psychoaktywnych w moczu są znacznie wyższe niż w ślinie i surowicy, dlatego czułość testów przeznaczonych do wykrywania ksenobiotyków w różnych materiałach biologicznych nie jest jednakowa. Porównanie moczu i śliny, jako materiału do wykonania oznaczenia narkotyków zebrano w Tabeli II.

Przy oznaczaniu substancji psychoaktywnych w materiale biologicznym należy mieć na względzie tak zwane okno detekcji, czyli przedział czasu, w jakim określony związek lub jego metabolity są wykrywane. Szerokość tego okna zależy od tego czy kontakt z substancją miał charakter incydentalny czy przewlekły, od drogi przyjęcia ksenobiotyku (doustna, dożylna, inhalacyjna, donosowa), jego kinetyki (szybkości absorpcji, dystrybucji, metabolizmu i eliminacji), a także od czułości testu (wartości cut-off). Na przykład pochodne amfetaminy po jednorazowym nadużyciu wykrywane są w moczu do 48 h od spożycia, a wysoce lipofilne tetrahydrokanabinoles, przyjmowane przez długi czas mogą być wykrywane w moczu nawet przez kilka tygodni (Tabela III).

Niektóre substancje (opiaty, benzodiazepiny) są obecne w moczu głównie w postaci sprzężonej z kwasem glukuronowym i siarkowym. Przeprowadzając wstępną hydrolizę moczu, która rozbija te połączenia, można poprawić parametry testu, zwiększyć czułość i poszerzyć okno czasowe. Hydroliza wiąże się jednak z dodatkowymi kosztami i jest czasochłonna (wydłuża czas analizy do kilku godzin) [1, 20].

Tabela II.

Porównanie moczu i śliny, jako materiału do oznaczania narkotyków [6].

	Mocz	Ślina
Okno detekcji	Szerokie (do kilku tygodni)	Wąskie (do 24 godzin)
Zakresy stężeń	Wysokie	Niskie
Oznaczane anality	Metabolity i substancje macierzyste	Głównie substancje macierzyste
Korelacja ze stanem klinicznym	Nie ma	Jest
Cut-off	Wysoki	Niski
Koszt	Niski	Wysoki
Wpływ pH	Duży	Duży
Ryzyko zafałszowania materiału	Duże	Małe

Tabela III.

Okno detekcji wybranych substancji oznaczanych w moczu [7].

Substancja	Okno detekcji (mocz)	
	Ostre zatrucie	Narażenie przewlekłe
Amfetamina i pochodne	48 h	1 tyg.
Barbiturany		Krótkodziałające: 24 h Długodziałające: 2-3 tyg.
Benzodiazepiny	Krótkodziałające: 24 h Długodziałające: 3 dni	4-6 tyg.
Kokaina	2-3 dni	Kilka dni
Metadon	2-3 dni	1-2 tyg.
Opiaty	2-4 dni	Kilka dni
THC (Marihuana)		Przyjęcie jednorazowe: do 4 dni Sporadyczne: do 10 dni Chroniczne: 4-6 tyg. Bierne narażenie: nie wykrywa się

Wpływ fazy przedanalizycznej (pobieranie, przygotowanie, przechowywanie i transport materiału) na wyniki oznaczeń narkotyków

Mocz w ilości ok. 30 ml powinien być pobrany do szczelnego, nietłukącego się i dokładnie opisanego pojemnika i wraz ze skierowaniem przesłany do laboratorium. W razie potrzeby materiał może być przechowywany w temperaturze 4-8 °C przez 48 h, lub zamrożony w temp. -20 °C przez 3 miesiące.

Należy postępować zgodnie ze Standardami jakości w zakresie czynności laboratoryjnej diagnostyki medycznej, które stanowią załącznik nr 1 do rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 1 stycznia 2009 [2].

Falszowanie materiału badanego

Osoby uzależnione od narkotyków oraz kontrolowane w kierunku abstynencji narkotykowej mogą stosować różne sposoby, mające na celu zafałszowanie wyniku analizy toksykologicznej. Stosowane są różne praktyki: rozcieńczenie moczu, dodatek obcych substancji czy podmiana próbki [1, 6, 17, 20]. Najpopularniejszą z nich jest rozcieńczenie przez dodatek wody lub innych płynów do próbki moczu. Rozcieńczenie może być też wynikiem zwiększonej podaży płynów lub zażyciem diuretyków na kilka godzin przed planowanym badaniem. Wywołanie zwiększonej diurezy ma na celu przyspieszenie eliminacji narkotyku i zmianę ostatecznego wyniku analizy. Ten wpływ nie jest jednak jednaki dla wszystkich substancji. Związki lipofilne o dużych objętościach dystrybucji nie reagują na rosnącą diurezę tak „chętnie” jak substancje hydrofilne. Dlatego w przypadku wysoce lipofilnych tetrahydrokanabinoli spadek ich stężenia w moczu w momencie badania może być niewystarczający dla uzyskania wyniku negatywnego. Rozcieńczenie moczu można rozpoznać wizualnie (wodojasne zabarwienie próbki) i może być ocenione przez oznaczenie ciężaru właściwego lub stężenia kreatyniny. Czasami ten sposób fałszowania próby może być maskowany dostępnymi w internecie spe-

cyfikami zawierającymi m. in. witaminy z grupy B i kreatynę – prekursor kreatyniny, które mają imitować prawidłową barwę i normować zawartość fizjologicznych składników moczu. Innym sposobem fałszowania wyniku oznaczenia jest dodatek do próbki moczu obcych substancji niszczących strukturę badanych związków. W tym celu często wykorzystywane są azotany, które utleniają tetrahydrokanabinole oraz opiaty. Azotany pozostają natomiast bez wpływu na stężenia kokainy, pochodnych amfetaminy czy fencyklidyny. Z kolei dodatek preparatów „łazienkowych” – specyfików do czyszczenia urządzeń sanitarnych, mydeł w płynie itp. sprawia, że mocz podejrzanie się pieni, ma odmienny zapach i odczyn pH. Wymienione praktyki mogą doprowadzić do spadku stężeń badanych substancji poniżej czułości testu, zwłaszcza, gdy wyjściowe stężenie analitu było niskie [1, 6, 20]. W Tabeli IV podano przykłady najczęstszych sposobów fałszowania moczu oraz metody ich rozpoznania.

Zasada działania i wykonanie szybkich testów

Szybkie testy narkotykowe to jednostopniowe testy immunochromatograficzne, jedno- lub wieloskładnikowe, bazujące na wysoko specyficznych reakcjach zachodzących pomiędzy antygenami i przeciwciałami. Ich istotą jest współzawodnictwo narkotyku oraz jego postaci skoniugowanej o miejsca wiązania na ograniczonej liczbie przeciwciał, osadzonych na membranie. Oznaczenie polega na naniesieniu próbki moczu do specjalnego portu w kasetce i obserwacji barwnych linii w okienku wyniku. Jeśli w badanej próbce znajduje się narkotyk w stężeniu większym od wartości odcięcia (cut-off), dochodzi do wysycenia przeciwciał oraz zahamowania reakcji z testowym koniugatem narkotyk-barwnik. W efekcie na membranie w odpowiedniej dla danego związku pozycji nie pojawia się barwna linia. Jeśli próbka nie zawiera narkotyku, z przeciwciałami wiąże się testowy koniugat, o czym świadczy barwna linia powstająca obok linii kontrolnej. Linia kontrolna musi być wyraźnie widoczna w okienku każdej kasetki, spełnia ona bowiem rolę kontroli wewnętrznej, spraw-

Tabela IV.
Sposoby manipulacji i rozpoznania fałszowania prób moczu [1].

Sposób fałszowania moczu	Rozpoznanie fałszowania
Rozcieńczenie	Ocena barwy, temperatury, badanie stężenia kreatyniny, pomiar gęstości
Dodatek aldehydu glutarowego	Test paskowy do badania zafalszowania moczu
Dodatek azotanów	Test paskowy do badania zafalszowania moczu
Dodatek środków czystości	Pomiar pH, ocena wyglądu (piana), barwy, zapachu
Dodatek kwasów, zasad	Pomiar pH, test paskowy do badania zafalszowania moczu
Dodatek nadtlenków	Test paskowy do badania zafalszowania moczu
Dodatek witamin, leków	Analiza chromatograficzna

dzającej prawidłowe przeprowadzenie procedury. Szybkie testy mają charakter przesiewowy i z pewnymi zastrzeżeniami, pozwalają na odróżnienie próbek pozytywnych, zawierających narkotyki od negatywnych.

Co to jest wartość odcięcia (cut-off)?

Wartość odcięcia to stężenie ksenobiotyku, powyżej którego wynik oznaczenia interpretowany jest jako pozytywny. Wartość odcięcia jest zawsze wyższa od granicy wykrywalności metody. Producenci mogą oferować testy o różnych poziomach odcięcia dla tej samej substancji. Od naszych potrzeb zależy, na których zdecydujemy się pracować. Przy wyborze pomocne mogą być wytyczne zaproponowane przez organizację SAMSHA i NIDA [1] (Tabela V). Trzeba przy tym pamiętać, że testy wykorzystywane do kontroli abstynencji narkotykowej w miejscu pracy niekoniecznie są odpowiednie do diagnostyki stanów nagłych. Dobrym przykładem są testy wykrywające opiaty. Użycie testów o wartości odcięcia na poziomie 2000 ng/ml pozwala zminimalizować wpływ konsumpcji nasion maku lekarskiego (np. makowca) na wynik testu u osób, które nie miały kontaktu z narkotykiem. Natomiast w przypadku zatrucia właściwsze wydają się testy o niskiej wartości odcięcia (300 ng/ml), tak aby uzyskać możliwie szeroką informację, czy do stanu klinicznego pacjenta przyczyniają się jakiegokolwiek substancje z grupy opiatów. Wśród osób uczestniczących w programach substytucyjnych wskazane jest stosowanie testów o wyższej czułości

Tabela V.
Wartości odcięcia zalecane dla testów immunologicznych do oznaczeń narkotyków w moczu [1].

Substancja	Wartość odcięcia (cut-off) ng/ml
amfetamina i analogi (metamfetamina, ekstazy)	1000, 500
barbiturany	300
benzodiazepiny	200
kokaina	300
metadon	300
opiaty	300, 2000
trójcykliczne antydepresanty	1000
tetrahydrokanabinoles	50

(a więc niższej wartości odcięcia), aby nie przeoczyć przypadków łamania abstynencji narkotykowej [1, 17, 20].

Biorąc pod uwagę niepełną swoistość testów immunologicznych należy pamiętać, że im niższa wartość odcięcia, tym wyższe prawdopodobieństwo generowania wyników fałszywie dodatnich, choć okno detekcji ulega poszerzeniu.

Interpretacja wyniku

Prosty sposób wykonania narkotestów nie przekłada się na prostą interpretację uzyskanych dzięki nim rezultatów. Przyczyną jest ograniczona swoistość metod immunologicznych, na których opierają się testy. Może to prowadzić do generowania wyników fałszywych (zarówno dodatnich jak i ujemnych), co rzutuje nie tylko na postępowanie lecznicze wobec pacjenta, ale też, zwłaszcza w przypadku wyników fałszywie dodatnich, może mieć dla niego konsekwencje prawne. Dlatego we wszystkich próbach zakwalifikowanych przez szybkie testy jako pozytywne, zaleca się wykonanie badań potwierdzających technikami o wyższej swoistości (GC-MS, LC-MS) [9, 13, 20]. Wiarygodność wychodzącej z laboratorium informacji zależy od rzetelności producenta testów, który w dołączonej ulotce umieszcza szereg istotnych informacji, w tym listę substancji przebadanych pod kątem reakcji krzyżowych. Oprócz związków, które służą do wyznaczenia wartości odcięcia, znajdują się na niej niektóre produkty biotransformacji ksenobiotyku, jego analogi, związki o zbliżonej do analitu strukturze chemicznej oraz te o odmiennej budowie cząsteczki (mające zastosowanie medyczne i niemedyce). Analizując informacje producentów nietrudno zauważyć, że wynik pozytywny generują nie tylko związki, którym dedykowany jest test, ale też inne, nie należące do badanej grupy substancje. W przypadku testów wykrywających trójcykliczne antydepresanty wynik dodatni może być efektem obecności w badanym moczu karbamazepiny i niektórych fenotiazyn zaś kodeina – popularny lek przeciwbólowy jest przyczyną fałszywie dodatnich wyników przy oznaczaniu opiatów.

Należy też zwrócić uwagę na różnice w reaktywności poszczególnych pochodnych należących do oznaczanej grupy związków. Na przykład testy dedykowane do oznaczania pochodnych amfetaminy są przydatne przy wykrywaniu amfetaminy i metamfetaminy, natomiast ich czułość jest zbyt

niska (8-10 razy mniejsza) w stosunku do MDMA (ekstazy), tiolowych pochodnych amfetaminy czy innych nowych pochodnych amfetaminy zawierających podstawniki fluorowe. Podobne zjawisko obserwuje się w obrębie pochodnych benzodiazepin. Testy do oznaczeń leków z tej grupy wykazują dobrą reaktywność np. dla diazepam, oskazepamu i nordiazepam, natomiast reaktywność kilkakrotnie obniżoną dla estazolamu, lorazepam i flunitrazepam. Te różnice mogą być przyczyną wyników oznaczeń fałszywie ujemnych (gdy pacjent jest pod wpływem substancji, a zbyt niska reaktywność testu nie powala na jej wykrycie). Poza tym należy pamiętać, że na rynku farmaceutycznym wciąż pojawiają się nowe substancje lecznicze, będące potencjalnym i nierozpoznanym źródłem interferencji. Takim interferentem nieoczekiwanie okazała się oksaprozyna - niesterydowy lek przeciwzapalny, który wchodzi w reakcję z testowymi przeciwciałami skierowanymi przeciwko benzodiazepinom i może być przyczyną wyniku fałszywie pozytywnego [20]. Wydaje się zatem, że pomimo kosztów z tym związanych, producenci szybkich testów powinni uaktualniać istniejącą listę przebadanych związków, zaś użytkownicy testów – aktywnie ich do tego zachęcać.

Kolejnym aspektem jest trafność doboru substancji „kalibrującej”. W przypadku oznaczeń benzodiazepin najczęściej jest nią oskazepam - metabolit wielu z nich. Jednak biotransformacja niektórych pochodnych benzodiazepin (np. bromazepam, lorazepam i in.) nie biegnie szlakiem oksazepam. Ponadto benzodiazepiny występują w moczu zazwyczaj w postaci sprzężonej z kwasem glukuronowym, a takie połączenie jest słabo wykrywane przez testy [1]. W efekcie przydatność kliniczna testu pogarsza się.

Interpretacja prawna

Substancje oznaczane narkotestami wymienione są w Ustawie o przeciwdziałaniu narkomanii oraz Ustawie o ruchu drogowym [3, 4]. Diagnosta musi zdawać sobie sprawę, że wynik potwierdzający obecność którejś z objętych kontrolą prawną substancji może mieć dla pacjenta konsekwencje prawne (na przykład w sytuacji, gdy pacjent brał udział w wypadku drogowym lub innym zdarzeniu). Pomimo tego, że oznaczenie zostało wykonane jedynie dla celów medycznych, należy się liczyć z możliwością powołania diagnosty do sądu, w celu określenia wiarygodności wyniku. Dlatego ważną sprawą jest określenie procedur prowadzenia kontroli oraz sposób raportowania wyników oznaczeń narkotestów.

Sposób raportowania wyniku

Oznaczenie substancji w moczu szybkim testem kasetowym daje dwie możliwości wyniku: pozytywny lub negatywny. Może się jednak zdarzyć, że obiektywna ocena testu jest trudna. W takim wypadku najczęściej wykonywane jest ponowne oznaczenie z użyciem kolejnej kasetki, co zwykle daje taki sam trudny do interpretacji wynik. Diagnosta powinien wówczas zinterpretować wynik oznaczenia jako wątpliwy lub niejednoznaczny, to znaczy do potwierdzenia metodą

referencyjną. W uzasadnionych przypadkach wykonanie badań potwierdzających zalecane jest też dla wyników pozytywnych i negatywnych. Praktycznie nie zawsze badania potwierdzające są wykonywane, gdyż wiąże się to z dodatkowymi kosztami, koniecznością wysłania materiału do laboratorium toksykologicznego i wydłużeniem czasu oczekiwania na wynik. Należy wówczas zadbać o to, żeby wynik został odpowiednio skomentowany. Biorąc pod uwagę ograniczenia szybkich testów immunologicznych wskazane jest podanie pod wynikiem informacji o rodzaju zastosowanego testu (nazwa handlowa, producent), czułości testu (cut-off) i możliwych interferencjach. Dodatkowy komentarz powinien dotyczyć okna czasowego charakterystycznego dla oznaczanej substancji. Na wynik oznaczenia ma również wpływ toksykokinetyka badanego związku oraz czynniki indywidualne (np. wiek, dieta, wydolność narządów, zażywane leki i używki, czas trwania uzależnienia, tolerancja i inne), które powinny być uwzględnione przez lekarza [1, 10, 16, 20].

Kontrola narkotestów (stosowanie materiałów referencyjnych.)

Szybkie testy immunologiczne posiadają w polu odczytu pasek kontrolny, który służy do oceny poprawności wykonania procedury. Użytkownicy, zgodnie z zaleceniami producentów traktują go często jako kontrolę wewnętrzną. Nie powinno to jednak zwalniać z konieczności prowadzenia wewnętrznej oraz zewnętrznej kontroli wiarygodności testów z zastosowaniem materiałów referencyjnych. Wybierając materiał referencyjny należy zwrócić uwagę na czułość posiadanego testu (wartość odcięcia) i zaopatrzyć się w takie roztwory kontrolne, które umożliwią prowadzenie kontroli jakości zarówno w zakresie stężeń pozytywnych jak i negatywnych. Zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Zdrowia regulującym zasady funkcjonowania laboratoriów medycznych, kontrole wewnętrzne oraz udział w programie kontroli zewnętrznej są obowiązkowe [2].

Na podstawie raportów kontroli wewnętrznej i zewnętrznej użytkownik ma możliwość dokonania oceny jakości stosowanych testów. Przy wyborze rodzaju narkotestów, nie koszt, ale jakość oraz wiarygodność testów powinna być najważniejszym kryterium. Ograniczenie liczby wyników nieprawdziwych leży w interesie laboratorium oraz diagnosty, który autoryzuje wynik i ponosi za niego zawodową i prawną odpowiedzialność.

Podsumowanie

Szybkie testy immunologiczne służą do wykrywania podstawowych, klasycznych substancji narkotycznych oraz niektórych leków. Na rynku dostępne są testy o różnych czułościach a ich wybór należy uzależnić od własnych potrzeb. Zastosowanie moczu jako materiału do badania, obarczone jest ryzykiem jego zafalszowania. Testy immunologiczne cechuje ograniczona specyficzność, która może być źródłem wyników fałszywych (należy zapoznać się z listą substancji interferujących). Wynik oznaczenia substancji psychoak-

tywnych w moczu może, ale nie musi korelować ze stanem klinicznym pacjenta. W uzasadnionych przypadkach należy przesłać materiał do laboratorium toksykologicznego w celu wykonania badań potwierdzających metodą referencyjną. Do wyniku oznaczenia należy dołączyć komentarz informujący o czułości i producencie testu oraz możliwych interferencjach. Szybkie testy immunologiczne muszą podlegać wewnętrznej oraz zewnętrznej kontroli wiarygodności. Analityk autoryzujący wynik oznaczenia substancji psychoaktywnej szybkim testem kasetowym, ponosi odpowiedzialność za jego konsekwencje medyczno-prawne.

Piśmiennictwo

1. AGSA Drugs of Abuse Testing Guidelines 2010, <http://www.cscq.ch/agsa>.
2. Dziennik Ustaw nr 223 poz. 1794 z 2009. Rozporządzenie Ministra Zdrowia w sprawie wymagań, jakim powinno odpowiadać medyczne laboratorium diagnostyczne.
3. Dziennik Ustaw nr 179 poz. 1485 z 2006. Ustawa o przeciwdziałaniu narkomanii.
4. Dziennik Ustaw nr 52 poz. 524 z 2004. Rozporządzenie Ministra Zdrowia w sprawie wykazu środków działających podobnie do alkoholu oraz warunków i sposobu przeprowadzania badań na ich obecność w organizmie.
5. Fermann GJ, Suyama J. Point of care testing in the emergency department. *J Emerg Med* 2002; 22: 393-404.
6. George S, Braithwaite RA. Use of On-Site Testing for Drugs of Abuse. *Clin Chem* 2002; 48: 1639-1646.
7. Harris CR. Drugs of Abuse. Date-Rape Drugs. The toxicology Handbook for Clinicians. *Mosby Elsevier Inc Philadelphia* 2006; 76-121.
8. Jones AW, Kugelberg FC, Holmgren A i wsp. Occurrence of ethanol and other drugs in blood and urine specimens from female victims of alleged sexual assault. *Forensic Sci Int* 2008; 181: 40-46.
9. Korte T, Pukalainen J, Lillsunde P i wsp. Comparison of Rapi-Test with Emit d.a.u. and GC-MS for the analysis of drugs in urine. *J Anal Toxicol* 1997; 21: 49-53.
10. Lachenmeier DW, Sproll C, Musshoff F. Poppy seed foods and opiate drug testing – where are we today? *Ther Drug Monit* 2010; 32: 11-18.
11. Lewandowski K, Flood J, Finn C, Tannous Bi wsp. Implementation of Point-of-Care Urine Testing for Drugs of Abuse in the Emergency Department of an Academic Medical Center. *Am J Clin Pathol* 2008; 129: 796-801.
12. Maravalias C, Stefanidou M, Dona A i wsp. Drug-facilitated sexual assault provoked by the victim's religious beliefs: a case report. *Am J Forensic Med Pathol* 2009; 30: 384-385.
13. Maurer HH. Current role of liquid chromatography-mass spectrometry in clinical and forensic toxicology. *Anal Bioanal Chem* 2007; 388: 1315-1325.
14. Melanson SE. Drug-of-abuse testing at the point of care. *Clin Lab Med* 2009; 29: 503-509.
15. Moeller MR, Kraemer T. Drugs of abuse in blood for control of driving under the influence of drugs. *Ther Drug Monit* 2002; 24: 210-221.
16. Penders J, Verstraete A. Laboratory guidelines and standards in clinical and forensic toxicology. *Accred Qual Assur* 2006; 11: 284-290.
17. Saugy M, Robinson N, Saudan C: The fight against doping: back on track with blood. *Drug Testing Anal* 2009; 1: 474-478.
18. Vandevenne M, Vandebussche H, Verstraete A. Detection time of drugs of abuse in urine. *Acta Clin Belg* 2000; 55: 323-333.
19. Wood DM, Warren-Gash C, Ashraf T i wsp. Medical and legal confusion surrounding gamma-hydroxybutyrate (GHB) and its precursors gamma-butyrolactone (GBL) and 1,4-butanediol (1,4BD). *QJM* 2008; 101: 23-29.
20. Wu AHB, McKay C, Broussard LA i wsp. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines: Recommendations for the Use of Laboratory Tests to Support Poisoned Patients Who Present to the Emergency Department. *Clin Chem* 2003; 49: 357-379.

Adres do korespondencji:

Ewa Gomółka
 Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum
 Katedra Toksykologii i Chorób Środowiskowych
 Pracownia Toksykologii Analitycznej i Terapii Monitorowanej
 31-501 Kraków, ul. Kopernika 15 B
 Tel: (48) 12 424 83 84
 e-mail: egomolka@cm-uj.krakow.pl

Zaakceptowano do publikacji: 27.04.2011