

Kreatininkoncentrationen i urin bör mätas vid drogtestning

Riktlinjer för beslutsgräns och tolkning behövs – inte minst för rättssäkerheten

ANDERS HELANDER, adjungerad professor, Alkohollab, institutionen för laboratoriemedicin, Karolinska institutet, och Karolinska universitetslaboratoriet, Stockholm

anders.helander@ki.se

MATS OHLSON, fil dr, institutionen för biomedicin, avdelningen för klinisk kemi och transfusionsmedicin, Sahlgrenska akademien vid Göteborgs universitet och klinisk kemi, Sahlgrenska universitetssjukhuset, Göteborg

OLOF BECK, adjungerad professor, institutionen för medicin,

Karolinska institutet, och Karolinska universitetslaboratoriet, Stockholm

THERESE HANSSON, tekn dr, Labmedicin Skåne, Klinisk kemi, Lund

FREDRIK C KUGELBERG, docent
ROBERT KRONSTRAND, docent; båda vid institutionen för medicin och hälsa, Linköpings universitet, och avdelningen för rättsgenetik och rättskemi, Rättsmedicinalverket, Linköping; samtliga för EQUALIS expertgrupp för läkemedel och toxikologi

Drogtestning av urinprov används i dag inom hälso- och sjukvården, socialtjänsten, arbetslivet, kriminalvården och polisverksamheten för detektion av missbruksmedel. Testningen genomförs antingen regelbundet, slumpmässigt eller vid misstanke och fokuserar primärt på de vanligare missbruksmedlen (amfetaminer, bensodiazepiner, cannabis, kokain och opiater). Metodiken beskrivs i Socialstyrelsens nationella riktlinjer [1], och rutiner för den praktiska användningen anvisas i ett meddelandeblad från samma myndighet [2].

I urinen kan man även fånga upp drogernas nedbrytningsprodukter (metaboliter), och därigenom erhålls ett betydligt större tidsfönster än med analys av blodprov. Beroende på typ av substans, intagen mängd och om bruket varit sporadiskt eller regelbundet kan användning av missbruksmedel påvisas i urinprov från något eller några dygn (amfetaminer, kokain och opiater) upp till flera veckor (bensodiazepiner och cannabis) efter intag [3]. En viktig skillnad mellan tolkningen av ett positivt drogtest i blod och ett i urin är att det förra talar för att personen var påverkad när provet togs, medan det senare endast påvisar tidigare intag.

Drogtestningens tillförlitlighet

Falskt negativa och falskt positiva drogtestresultat förekommer ibland, vilket kan få allvarliga konsekvenser. För att minimera risken för felaktiga resultat ska endast kvalitetssäkrade provtagnings- och provhanteringsrutiner och tillförlitliga analysmetoder för både screening och verifikation utnyttjas [4]. Manipulation av prov i syfte att undgå upptäckt utgör dock en ständig källa till osäkerhet som riskerar att undergräva förtroendet för drogtestning. Fastän studier har indikerat att provmanipulation inte är vanligt förekommande [5, 6] sprids otaliga sådana tips via Internet. Exempel på metoder för att manipulera urinprov är att i samband med provtagningen tillsätta kemikalier, till exempel klorin, salt, syra, bas eller detergent, som stör eller omöjliggör den initiala immunkemiska (antikropps-

baserade) screeninganalysen av droger. Resultatet kan då bli att provet inte går vidare till masspektrometrisk verifikationsanalys. En annan manipulationsmetod är att i samband med provtagningen byta ut provet mot drogfri urin som man tagit med sig i en behållare som gömms i kläderna eller på kroppen. Även urin från vanliga husdjur som hund och katt kan utnyttjas för detta ändamål [7]. Av den anledningen är det alltid viktigt att kräva stor urinvolym (helst minst 100 ml) och att mäta provets temperatur (acceptabelt intervall är vanligen 33–38°C). Emellertid är det även praktiskt möjligt för den som vill manipulera ett prov att spruta in drogfri urin i blåsan via en kateter innan provtagningen.

Den vanligaste metoden för manipulation är dock att späda ut urinen, antingen direkt med vatten i samband med att provet tas, eller indirekt genom intag av stora mängder vätska strax före provtagningen. Detta kan leda till att koncentrationen av droger och metaboliter hamnar under mätbar nivå och att detektionstiden därmed förkortas så att provresultatet blir falskt negativt. Ett flertal rekommendationer beskriver rutiner för hur manipulation av urinen i samband med provtagning kan förhindras eller åtminstone försvåras (Fakta 1). Genom att följa dessa rutiner, och om möjligt använda oanonsrad slumpmässig drogtestning, behövs det i vissa sammanhang kanske inte vara absolut nödvändigt med övervakad provtagning, något som ofta kan upplevas känsligt för såväl provlämnare som provtagare.

Metoder för att påvisa manipulation

På laboratorier som utför drogtestning sker regelmässigt ytterligare kontroller i syfte att försöka säkerställa att provet inte har manipulerats. Urin kan till exempel testas med avseende på kreatinin, nitrit, pH och densitet. Om urinens densitet understiger referensintervallets nedre gräns (vanligen <1,003) indikerar det ett utspätt prov. Är densiteten $\leq 1,001$ indikerar det att provet är manipulerat [8]. Bestämning av provets pH-värde utnyttjas också för att upptäcka manipula-

SAMMANFATTAT

Utspädning av urinen är den vanligaste manipulationsmetoden som syftar till att dölja förekomst av droger i provet.

Mätning av kreatininkoncentrationen används för att upptäcka urinprov som på grund av utspädning riskerar att testa falskt negativt för droger.

Det saknas nationella rekommendationer vad gäller beslutsgräns för kreatininkoncentrationen i urin i samband med drogtestning.

Eftersom resultat från drog-

testning kan få allvarliga rättsliga konsekvenser bör gemensamma riktlinjer införas i Sverige.

Förslaget innebär att 2 mmol/l blir nedre gränsvärde för att indikera ett utspätt urinprov i samband med drogtestning. **Ett utspätt urinprov** ska dock inte likställas med ett positivt drogtest eftersom det kan finnas andra orsaker än avsiktlig manipulation till en låg kreatininkoncentration.

FAKTA 1

Åtgärder för att förhindra fusk med urinprov i samband med drogtestning

- Identitetskontroll
- Ingen tid för förberedelse
- Inga onödiga kläder och väskor etc tillåtna
- Krav på att händerna ska sköljas innan provtagning
- Inget vatten får finnas i provtagningsrummet
- Blåfärgat vatten i toaletten
- Kräv stor urinvolym (minst 100 ml)
- Kontrollera urinprovets temperatur (godkänt intervall 33–38 °C)
- Granska urinprovets färg och eventuellt lukt
- Kräv nytt urinprov om medelbart om det första verkar utspätt, eller vid annan misstanke om manipulation
- Kontrollera prov med urinsticka (kreatinintest eller »manipulationskit«)
- Övervaka provtagningen
- Plombera provet

tion. Referensintervallet för urin brukar vara pH 4,5–8,0, där avvikande värden kan indikera att provet har manipulerats genom tillsats av syra (alternativt surgjorts genom intag av askorbinsyra) eller bas, alternativt att det är gammalt eller värmebehandlat. Nitrit kan tillsättas i syfte att oxidera tetrahydrokannabinolsyra, den vanligaste utsöndringsprodukten av cannabis, och därigenom undgå upptäckt. Förekomst av nitrit i låg nivå kan dock bero på urinvägsinfektion. Dessa och andra analyser, som glutaraldehyd och oxidanter, ingår i kommersiella så kallade manipulationskit.

Kreatininmätning som kontrollmetod

Den absolut vanligaste kontrollmetoden för urinprov i samband med drogtestning är att mäta provets kreatininkoncentration. Kreatinin är en kroppsegen substans som bildas i musklerna från kreatinfosfat och utsöndras med relativt konstant hastighet. Kreatininkoncentrationen mäts rutinmässigt i blodprov för att påvisa nedsatt njurfunktion och i urinprov för att normalisera variabla substansnivåer som i själva verket beror på skillnader i urinutspädning. Även ett relativt måttligt vätskeintag (0,5 l) åstadkommer redan efter en timme en tiofaldig eller ännu större utspädning av urinens kreatininkoncentration, och effekten kvarstår i ungefär 1–3 timmar [9, 10]. Intag av kreatin i syfte att öka utsöndringen av kreatinin och därigenom dölja utspädning av urinen är något

som ofta rekommenderas i drogforum på Internetsidor. Aktuella resultat visar dock att inte ens intag av 10 gram kreatin är tillräckligt för att kompensera för utspädningseffekten [7].

Inom drogtestningen görs mätning av urinens kreatininkoncentration för att upptäcka onormal utspädning, men även för att verifiera att provet verkligen utgörs av urin. Att förlita sig på visuell kontroll av urinens färg [11] är inte tillräckligt, eftersom tips på Internet gör gällande att intag av B-vitamin kan användas för att gulfärga ett utspätt urinprov. Det har även rapporterats att vissa fruktdrycker skulle kunna klara laboratoriernas kontrollmetoder för provmanipulation, både vad gäller innehåll av kreatinin och utseendemässigt [7].

Kreatininkontrollen sker vanligen genom att man använder förbestämda gränsvärden för en godkänd nivå, men det är även möjligt att normalisera drogtestresultaten genom att beräkna en kvot mellan drog- och kreatininkoncentrationen [12].

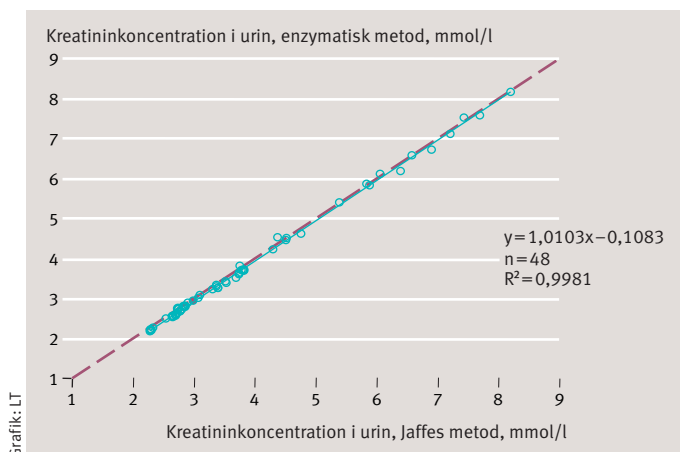
Gränsvärde för kreatininkoncentrationen i urin

När mätning av kreatininkoncentrationen började introduceras som rutinmässig kontrollmetod i samband med drogtestning av urin föreslogs 4 mmol/l (1 mmol/l=113 mg/l) som gränsvärde för att indikera ett onormalt utspätt och därmed eventuellt manipulerat prov [9]. Detta gränsvärde baserades på att man observerat en ökad risk för falskt negativa drogtestresultat i prov vars kreatininkoncentration understeg denna nivå. I Sverige rådde länge samsyn kring detta gränsvärde, men senare har en del laboratorier justerat sin nivå till 2 mmol/l. Denna gräns rekommenderas av Substance Abuse and Mental Health Services Administration i USA [6, 13] och av European Workplace Drug Testing Society [14] för att indikera ett utspätt prov i samband med drogtestning i arbetslivet, men den används även inom sjukvården. Ett ännu lägre gränsvärde (0,5 mmol/l) rekommenderas för att indikera en »ofysiologisk« kreatininhalt (ogiltigt prov) [8, 15]. För urinprov som innehåller mellan 0,5 och 2,0 mmol/l föreslås ibland kompletterande mätning av densiteten.

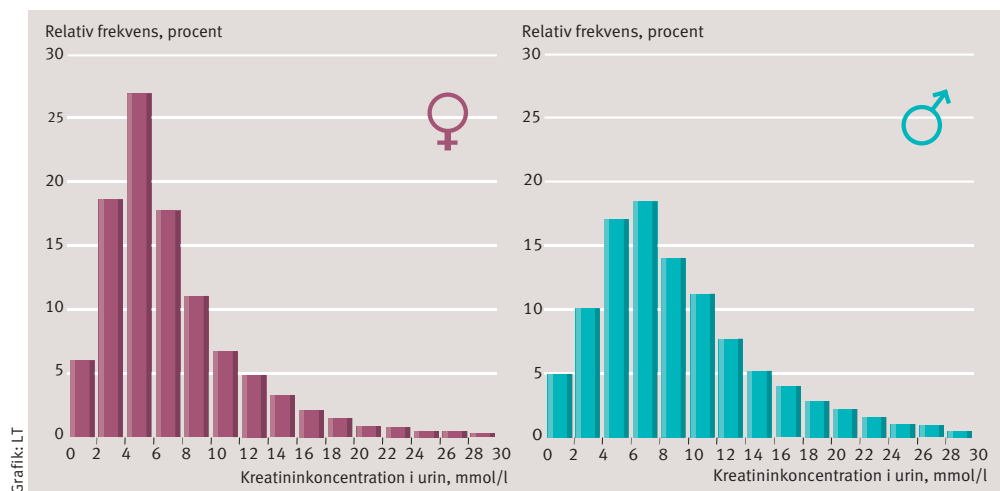
I dag saknas nationella riktlinjer gällande nedre gränsvärde för kreatininkoncentrationen i urin i samband med drogtestning. En aktuell genomgång visar att gränsen varierar från 2,0 till 4,4 mmol/l vid svenska SWEDAC-ackrediterade laboratorier. Dessutom förekommer skillnader i hur ett prov med en onormalt låg kreatininhalt tolkas. I extrema fall anses samtliga sådana resultat vara en följd av medveten provmanipulation och likställs med ett positivt drogtest, vilket därmed kan få rättsliga konsekvenser. Sålunda föreligger ett stort behov av att nå nationell samstämmighet kring användningen av urinkreatininkontroll inom drogtestningen, och vad gäller nedre gränsvärde vid tolkningen av resultat.

Metoder för att mätakreatininkoncentrationen

En harmonisering av kreatininanalysen underlättas om olika mätmetoder levererar jämförbara resultat. I Sverige används i dag två spektrofotometriska analysmetoder, en direkt kinetisk (Jaffes metod) och en indirekt enzymatisk metod. Den klassiska Jaffe-metoden bygger på en färgreaktion med pikrinsyra i alkalisk miljö, där absorbansförändringen är proportionell mot mängden kreatinin i provet. Den enzymatiska metoden bygger på en flerstegsreaktion via kreatin, sarkosin och väteperoxid till den kvantifierade färgade slutprodukten quinoneimin. Resultat från EQUALIS kvalitetskontrollprogram med okända provutskick visar att metoderna ger likvärdiga mätvärden, åtminstone i intervallet 2–8 mmol/l (Figur 1). Dessa resultat överensstämmer med en nyligen publicerad metodjämförelse (Jaffes metod kontra enzymatisk metod, HPLC och GC-MS) [16]. Följaktligen är valet av gränsvärde för kreatininkon-



Figur 1. Metodjämförelse mellan kreatininkoncentrationen i urin med Jaffe-metoden och med enzymatisk metod. Enskilda mätpunkter är metodmedelvärden från EQUALIS provutskick under 2007–2010. Resultaten visar att det inte föreligger någon signifikant metodskillnad i mätintervallet 2–8 mmol/l kreatinin.



Figur 2. Skillnader i distributionen av kreatininkoncentrationen i urinprov från kvinnliga (n = 8 619) och manliga (n = 9 038) patienter som genomgått allmänkemisk analys (det vill säga inga missbruksprov) vid Sahlgrenska universitetssjukhuset i Göteborg. Mätvärden >30 mmol/l har exkluderats.

centrationen i urin oberoende av analysmetod, vilket är en stor fördel. Det ska dock påpekas att varken Jaffe-metoden eller enzymatisk metodik är helt selektiv för kreatinin.

Kreatininkoncentration i urinprov från olika populationer

En sammanställning av kreatininkoncentrationen som uppmätts i närmare 165 000 urinprov från fyra av landets laboratorier presenteras i Tabell I. Resultaten visar på generellt god överensstämmelse för prov från samma patientkategori mellan olika laboratorier och analysmetoder, men den visar också på några skillnader.

En uppenbar skillnad gäller andelen urinprov med låg kreatininhalt. I genomsnitt 10,6–19,4 procent av samtliga prov understeg det högre gränsvärdet 4 mmol/l, och för gränsvärdet 2 mmol/l var motsvarande siffror 2,4–8,0 procent. Vid Sahlgrenska universitetssjukhusets laboratorium uppgick dessutom andelen urinprov med ofysiologiskt låg kreatininkoncentration (<0,5 mmol/l) vid allmänkemisk analys till cirka 0,5 procent, medan motsvarande siffra vid Skånes universitetssjukhus i Lund endast var 0,05 procent. Noteras bör att Sahlgrenska provvolym inkluderade många neonatala urinprov som har mycket låg kreatininkoncentration [17].

TABELL I. Jämförelse av kreatininkoncentrationen i urinprov från olika laboratorier och patientgrupper. Jämförelsen avser prov analyserade 2009.

Analysmetod, provkälla, patientgrupp	Antal prov	Kreatininkoncentration, mmol/l			Andel utspädda urinprov, procent		
		Percentil 2,5–97,5	Medel	Median	<4 mmol/l	<2 mmol/l	<0,5 mmol/l
<i>Jaffes metod</i>							
Karolinska universitetssjukhuset, Stockholm							
Prov från företagshälsovård	21 869	1,8–30,3	13,1	12,3	11,8	3,1	0,03
Missbruksprov från Beroendecentrum	29 597	1,5–31,6	13,0	11,9	11,9	3,9*	0,13*
Övriga missbruksprov	17 980	1,5–33,6	13,7*	12,7*	12,3	4,2*	0,13*
Rättsmedicinalverket, Linköping							
Missbruksprov	28 362	1,1–34,1	12,8	11,2	18,7	8,0	0,05
Drogpositiva	21 765	1,4–35,4	13,9*	12,4*	14,1	5,1	0,03
Drognegativa	6 597	0,9–27,1	9,1	7,2	33,6*	17,5*	0,14
Kvinnor	4 171	1,1–30,9	11,4	9,7	22,0*	8,9	0,07
Män	24 191	1,1–34,6	13,0*	11,5*	18,1	7,8	0,05
<i>Enzymatisk metod</i>							
Sahlgrenska universitetssjukhuset, Göteborg							
Allmänkemi	18 974	1,1–23,7	8,5	7,0	19,4*	5,5	0,47
Kvinnor	8 630	1,1–20,2	7,3	5,9	24,3*	5,8*	0,61
Män	9 063	1,2–25,8	9,5*	8,1*	14,5	4,7	0,38
Missbruksprov	3 682	1,2–31,4	11,9*	10,4*	15,7	5,5	0,19
Kvinnor	1 084	1,0–27,1	9,6	8,1	20,8*	7,6*	0,18
Män	2 075	1,4–32,3	12,8*	11,6*	13,2	4,4	0,14
Skånes universitetssjukhus, Lund							
Allmänkemi	19 416	2,0–23,4	9,2	8,0	14,4*	2,4	0,05
Missbruksprov	24 854	1,8–30,7	12,4*	11,2*	10,6	3,0*	0,01

*Signifikant högre värde jämfört med motsvarande grupp, P<0,001.

En annan orsak till koncentrationsskillnader återfinns i patientgruppernas könsfördelning. Kreatininutsöndringen korrelerar med muskelmassan. Kvinnor utsöndrar därför i genomsnitt mindre kreatinin än män, vilket också framgår av resultaten (Figur 2). I de två patientgrupper där könsfördelningen studerades hade 22,0–24,3 procent av kvinnorna jämfört med 14,5–18,1 procent av männen en kreatininkoncentration i urinen som understeg 4 mmol/l (Tabell I). Vid det lägre gränsvärdet 2 mmol/l var könsskillnaden mindre, och så även i andelen urinprov med ofysiologiskt låg kreatininhalt (<0,5 mmol/l).

En intressant observation gäller skillnader i kreatininkoncentration mellan urinprov som testat positivt respektive negativt för illegala droger. Bland de drognegativa proven från Rättsmedicinalverket innehöll hela 33,6 procent <4 mmol/l och 17,5 procent <2 mmol/l (Tabell I). Denna observation talar för att urinutspädning kan vara en viktig orsak till falskt negativa drogtest, åtminstone i denna selekterade grupp av individer där misstanke om drogpåverkan initierat provtagningen. En faktor som dock kan påverka resultatet är om personerna hade konsumerat alkohol [18], något som inte undersöks rutinmässigt. Det är välkänt att alkoholintag ger både en markant utspädning och en ökad exkretion av urin [10]. Detta beror inte enbart på vätskemängden i alkoholdryckerna utan på etanolens inverkan på antidiuretiskt hormon, vilket leder till minskad vattenresorption i njurarna [19].

Skillnaderna i kreatininkoncentrationen är uppenbarligen inte beroende av vilken mätmetod som använts, utan snarare av vilket laboratorium som utfört analysen och vilka patientkategorier som omfattas. En bidragande orsak kan möjligen vara att metoderna är sämre kalibrerade i den lägsta delen av mätområdet (<2 mmol/l).

Vikten av att harmonisera drogtestningen

Inom EQUALIS expertgrupp för läkemedel och toxikologi har de variabla gränsvärdena för kreatininkoncentrationen i urin samt skillnader i tolkningen av ett utspätt prov inom landet lyfts fram som viktiga problem i samband med drogtestning, inte minst ur ett rättsligt perspektiv. Den aktuella sammanställningen av koncentrationen av kreatinin i urinprov från några av landets större drogtestlaboratorier visar att en harmonisering av dessa frågor är fullt möjlig. Som nedre gräns-

FAKTA 2.

Förslag på gemensam åtgärdsgräns för kreatininkoncentrationen i urin vid drogtestning

- Gränsvärdet för kreatininkoncentrationen som indikerar ett utspätt urinprov sätts till 2,0 mmol/l (226 mg/l).
- Ett negativt drogtest där urinprovet har en kreatininkoncentration <2,0 mmol/l är osäkert på grund av utspädningseffekten.
- En kreatininkoncentration i urin <2,0 mmol/l är dock inte detsamma som ett positivt drogtest.

värde för att indikera ett utspätt och möjligen manipulerat urinprov föreslås 2 mmol/l, vilket överensstämmer med internationella rekommendationer (Fakta 2). Det är viktigt att påpeka att ett utspätt urinprov inte nödvändigtvis beror på avsiktlig manipulation, men oavsett orsaken ökar detta risken för falskt negativa drogtest. I en studie visade sig närmare 20 procent av alla negativa men utspädda urinprov i själva verket vara drogpositiva efter omanalys, då man använt ett lägre gränsvärde för drogtesten [20].

Förutom av skillnader i gränsvärdet för kreatininkoncentrationen i urin (det vill säga i tolkning av urinutspädning) påverkas risken för ett falskt negativt resultat av vilken lägsta kvantifieringsnivå som används för de olika drogsustanser. Även här skiljer det sig mellan metoder och laboratorier. För att ytterligare öka rättssäkerheten i samband med drogtestning bör därför även gränsvärdena för de vanligaste missbruksmedlen harmoniseras.

■ *Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Inga uppgivna.*

■ *EQUALIS expertgrupp för läkemedel och toxikologi består av Robert Kronstrand (ordförande), Olof Beck, Therese Hansson, Anders Helander och Fredrik C Kugelberg.*

Kommentera denna artikel på Lakartidningen.se

REFERENSER

1. Socialstyrelsen. Nationella riktlinjer för missbruks- och beroendevård. Stockholm: Socialstyrelsen; 2007.
2. Narkotikatester av urin inom hälso- och sjukvården som utförs av legitimerad hälso- och sjukvårdspersonal – Meddelandeblad. Stockholm: Socialstyrelsen; 2008.
3. Verstraete AG. Detection times of drugs of abuse in blood, urine, and oral fluid. *Ther Drug Monit.* 2004; 26:200-5.
4. Hermansson U, Beck O, Westergård A, Brunen M. Drogtest viktig del av arbetslivets preventiva insatser mot narkotika. *Läkartidningen.* 2010;107:2878-80.
5. Beck O, Bohlin M, Bragd F, Bragd J, Greitz O. Manipulation av urin i drogtest – en överdriven farhåga. *Läkartidningen.* 2000;97:703-6.
6. Bush DM. The US mandatory guidelines for federal workplace drug testing programs: current status and future considerations. *Forensic Sci Int.* 2008;174:111-9.
7. Villena VP. Beating the system: a study of a creatinine assay and its efficacy in authenticating human urine specimens. *J Anal Toxicol.* 2010;34:39-44.
8. Cook JD, Caplan YH, LoDico CP, Bush DM. The characterization of human urine for specimen validity determination in workplace drug testing: a review. *J Anal Toxicol.* 2000;24:579-88.
9. Lafolie P, Beck O, Blennow G, Boreus L, Borg S, Elwin CE, et al. Importance of creatinine analyses of urine when screening for abused drugs. *Clin Chem.* 1991;37:1927-31.
10. Dahl H, Stephanson N, Beck O, Helander A. Comparison of urinary excretion characteristics of ethanol and ethyl glucuronide. *J Anal Toxicol.* 2002;26:201-4.
11. Simpson D, Jarvie DR, Moore FM. Measurement of creatinine in urine screening for drugs of abuse. *Clin Chem.* 1993;39:698-9.
12. Cone EJ, Caplan YH, Moser F, Robert T, Shelby MK, Black DL. Normalization of urinary drug concentrations with specific gravity and creatinine. *J Anal Toxicol.* 2009;33:1-7.
13. Mandatory guidelines for federal workplace drug-testing programs; Notice. Department of Health and Human Services. Substance Abuse and Mental Health Services Administration. Rockville, MD: Federal Register; 2008. <http://edocket.access.gpo.gov/2008/pdf/e8-26726.pdf>
14. European laboratory guidelines for legally defensible workplace drug testing. European Workplace Drug Testing Society (EWDTs); 2002. <http://www.eapinstitute.com/documents/EWDTSGuidelines.pdf>
15. Edgell K, Caplan YH, Glass LR, Cook JD. The defined HHS/DOT substituted urine criteria validated through a controlled hydration study. *J Anal Toxicol.* 2002; 26:419-23.
16. Tsikas D, Wolf A, Mitschke A, Gutzki FM, Will W, Bader M. GC-MS determination of creatinine in human biological fluids as pentafluorobenzyl derivative in clinical studies and biomonitoring: Inter-laboratory comparison in urine with Jaffe, HPLC and enzymatic assays. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2010;878:2582-92.
17. Barbanell CS, Winkelman JW, Fischer GA, King AJ. Confirmation of the Department of Transportation criteria for a substituted urine specimen. *J Occup Environ Med.* 2002;44:407-16.
18. Varenbut M, Plater-Zyberk CJ, Worster A, Daiter J. Does low urine creatinine level indicate the presence of urine alcohol in methadone maintenance treatment patients? *Am J Drug Alcohol Abuse.* 2010;36:199-201.
19. Ragland G. Electrolyte abnormalities in the alcoholic patient. *Emerg Med Clin North Am.* 1990;8:761-73.
20. Fraser AD, Zamecnik J. Impact of lowering the screening and confirmation cutoff values for urine drug testing based on dilution indicators. *Ther Drug Monit.* 2003;25:723-7.