

# Verfälschungsstoffe beim Drogennachweis\*

## Adulterants in Urine Tests for Drugs of Abuse

P. Hagemann, M. Siegrist

Laboratorium der Psychiatrischen Klinik Münsterlingen

### Zusammenfassung:

Anhand von Modellversuchen wird belegt, daß der Nachweis von suchterzeugenden Drogen im Urin insbesondere mittels EMIT, aber auch mittels FPIA, verfälscht werden kann. In besonders wirksamer Weise führt eine Ansäuerung < pH 3,5 zu falsch-negativen Resultaten. Ebenfalls signifikant erniedrigte Meßsignale werden durch Zugabe von flüssiger Seife oder Hypochlorit in erheblichen Mengen hervorgerufen.

Weitere Einflußgrößen und Störfaktoren aus der Literatur werden diskutiert, insbesondere Wasser, Kochsalz und Visine®, die alle ebenfalls ein beträchtliches Verfälschungspotential aufweisen. Gegenmaßnahmen sind eine überwachte Specimengewinnung und eine sorgfältige Beurteilung der Specimenqualität anhand makroskopischer und analytischer Parameter.

### Schlüsselwörter:

Drogennachweis – Verfälschungsstoffe – Cannabis – Opiate – EMIT – FPIA

### Summary:

In model tests we were able to demonstrate that the detection of drugs of abuse in urine primarily in EMIT, and to a lesser extent in FPIA as well, can be subject to adulteration. Acidification < pH 3,5 is an especially efficient means to false-negative results. Less significant changes of the analytical signal were produced by addition of liquid soap or hypochlorite in considerable amounts.

Additional interference factors and influence factors are discussed, namely water, sodium chloride, and Visine®, all of them bearing a considerable adulteration potential. Counter measures are a supervision of specimen collection and an evaluation of specimen quality by means of macroscopic and analytical parameters.

### Keywords:

Drug detection – Adulterants – Cannabis – Opiates – EMIT – FPIA

## Einleitung

Verfälschungsstoffe (engl. adulterants) sind Zusätze zu Specimen für den Nachweis von Drogen (meist Urin), welche durch den Probanden in der Absicht heimlich zugesetzt werden, ein falsch-negatives Resultat zu bewirken. Vermutlich wird die Diskussion um wirkungsvolle Verfälschungsstoffe und deren Erkennung und Eliminierung andauern, solange es Drogenbenützer gibt und Laboratorien, welche Drogennachweise durchführen. Quellen für den edlen Wettstreit zwischen Patient und Analytiker sind einerseits Inserate und Beiträge in einschlägigen Publikationen der Drogenszene (z. B. die Zeitschrift „High Times“), andererseits analytische Arbeiten aus der Fachliteratur.

Thematisch geht es um die Aufdeckung präanalytischer Störfaktoren (also In-vitro-Interferenzen) in der klinischen Toxikologie. Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, in Mitteleuropa zugängliche Verfälschungsstoffe in ihrer Wirkung auf hierzulande gebräuchliche suchterzeugende Drogen zu evaluieren. Weiterhin sollte abgeklärt werden, über welche Hinweise das Laboratorium verfügt, um Verfälschungen aufzudecken. Und schließlich sollte geprüft werden, ob und wie nachgewiesene Verfälschungen eliminiert werden können.

\* Leicht veränderte Fassung einer Arbeit zum Anlaß des 65. Geburtstages Prof. Dr. Dr. H. Keller, zuerst veröffentlicht im „bulletin“ der SGKC 1989; 31/1: 28–38.

## Material und Methoden

Zur Untersuchung gelangten frische, unkonservierte Urinspecimen von ambulanten und stationären Patienten unseres Krankenhauses im Alter zwischen 17 und 35 Jahren. Die Nachweise wurden bei Zimmertemperatur durchgeführt. Trübe Urine wurden zentrifugiert. Der pH-Wert der Specimen lag zwischen 5,0 und 8,0.

Die Nachweise erfolgten mit Hilfe eines homogenen Enzymimmunoassays (EMIT d. a. u. [Drugs of Abuse Urine], Syva, Palo Alto, CA 94303, in der Schweiz vertreten durch E. Merck). Die Empfindlichkeit des Tests beträgt nach Firmenangaben 10 µg/l bei Cannabis, 0,3 mg/l bei Opiaten, 0,3 mg/l bei Methadon. Zur Kalibration wurden die Kalibratoren der Lieferfirma eingesetzt (100 µg/l für Cannabis, 0,3 mg/l für Opiate, 0,3 mg/l für Methadon). Die Auswertung erfolgte an einem System Syva AutoLab 5000 (Wellenlänge 340 nm, Temperatur: 30 °C) nach Angaben der Lieferfirma.

Als alternative Methode wurde die Fluoreszenzpolarisation (FPIA) gewählt. Die Auswertung erfolgte an einem ADx-Analysator. Diagnostica und Gerät stammten von Abbott Laboratories (North Chigago, IL 60064). Damit die beiden Methoden direkt miteinander verglichen werden konnten, wurden die Kalibratoren des EMIT-Systems auf dem Abbott ADx bestimmt. Das Ergebnis des EMIT Low Kalibrators diente als cutoff für das ADx.

Als Verfälschungstoffe wurden geprüft:

Natronlauge p. a. 2 mol/l (E. Merck, Darmstadt)

Salzsäure p. a. 2 mol/l (E. Merck, Darmstadt)

Flüssigseife, Lifosan soft (Braun SSC, Sempach)

Natriumhypochlorit 5%, 47,6 g/l Aktivchlor (Siegfried, Zofingen)

## Ergebnisse

Die ersten Modellversuche ergaben, daß die verwendeten Verfälschungstoffe keine reproduzierbaren, makroskopisch erkennbaren Veränderungen des Specimens hervorrufen. Zwar traten gelegentlich leichte Farbverschiebungen oder Trübungen auf (Tab. 1, 2), doch sind diese als analytischer Hinweis nicht zuverlässig verwertbar.

Der Opiatnachweis mittels EMIT weist eine deutliche pH-Abhängigkeit auf (Tab. 1): wird der pH auf < 4,0 gesenkt, sinkt die Absorptionsdifferenz unter den negativen Standard. Durch Zugabe einer äquivalenten Menge an Base läßt sich das ursprüngliche Meßsignal wieder herstellen. Weitaus geringer ist die Abhängigkeit des Nachweises von alkalischem Milieu (Specimen 5,6): selbst bei pH 10,5 ist das Meßsignal nur unwesentlich verändert.

Aktivchlor senkt das Meßsignal wenig und erst in höheren Dosen. Derselbe Befund trifft für Seife zu.

Analoge Versuche mit dem EMIT-Nachweis für Cannabis (Tab. 2) ergaben tendenziell übereinstimmende Resultate, zeigten aber eine wesentlich größere Robustheit dieses Tests. Eine Senkung des pH auf 3,5 bzw. 3,0 bewirkte lediglich, daß ein Meßsignal aus dem Bereich einer mittleren Konzentration in den Bereich des niedrigen Stan-

dards abwanderte, aber immer noch positiv blieb. Auch hier war der Effekt durch Basenzugabe reversibel.

Der Einfluß von Seife war sowohl absolut wie auch im Vergleich zum Opiatnachweis deutlicher; freilich bewirkte Seife in keinem Fall eine Verfälschung eines vorher positiven in ein negatives Testresultat. Derselbe Befund wie für Seife konnte auch bei Aktivchlor erhoben werden.

Die zunächst summarisch zusammengefaßten Befunde werden in den folgenden Abbildungen illustriert und erweitert: Abbildung 1 zeigt den Verlauf des Meßsignals bei zwei schwach Cannabis-positiven Urinen als Funktion des pH. Analoge Verhältnisse liegen übrigens auch bei Methadon vor (Abb. 2). Dagegen ist die Fluoreszenzpolarisation nahezu unempfindlich auf pH-Schwankungen (Abb. 3, 4).

Flüssigseife in großen Mengen wird beim EMIT ein stark-positives Resultat nur unwesentlich verändern (Abb. 5); ein schwach-positives kann dagegen nach negativ verfälscht werden (Abb. 6). Bei der Fluoreszenzpolarisation wird der Cannabis-Nachweis durch Flüssigseife in hohen Mengen gestört (Abb. 7); der Opiat-Nachweis dagegen ist praktisch unempfindlich auf Seife (Abb. 8).

Analog zu Seife und etwa im selben Ausmaß ist das Störpotential von Hypochlorit (Abb. 9, 10), wobei der Opiat-Nachweis empfindlicher als der Nachweis von Cannabis reagiert.

## Diskussion

Im Zusammenhang mit Drogennachweisen ist zunächst einmal Wasser eine zu beachtende Einflußgröße (1): literweises Trinken von Wasser kann den Urin derart verdünnen, daß ein Nachweis unter die Erfassungsgrenze fällt, insbesondere dann, wenn bereits viel Zeit seit der Dro-

Tab. 1: Opiatnachweis mittels EMIT. Specimen: je 10 ml Urin. Als Meßgröße sind die Absorptionsdifferenzen eingetragen

Specimen	Farbe	Aussehen	Zusatz (µl)	pH	Δ A
Std. neg.					0,158
Std. low					0,343
Std. med.					0,431
Urin 3	hellgelb	klar		5,5	0,497
3	do	do	750 HCl	3,5	0,123
3	do	do	375 HCl	5,5	0,496
			375 NaOH		
4	dunkelgelb	klar		6,0	0,482
4	do	do	750 HCl	4,0	0,214
4	do	do	375 HCl	5,5	0,479
			375 NaOH		
4	hellrot	do	750 OCl <sup>-</sup>	6	0,433
4	braun	leicht trüb	1500 OCl <sup>-</sup>	6	0,411
5	dunkelgelb	klar		5,5	0,481
5	do	do	200 Seife	5,5	0,474
5	do	do	1200 Seife	5,5	0,371
5	do	do	700 NaOH	9	0,487
5	do	do	400 OCl <sup>-</sup>	5,5	0,471
6	dunkelgelb	klar		7	0,483
6	do	do	300 Seife	7	0,474
6	do	do	700 NaOH	10,5	0,491
6	do	do	400 OCl <sup>-</sup>	7	0,475

Tab. 2: Nachweis von Cannabis mittels EMIT. Specimen: je 10 ml Urin. Meßgröße: Absorptionsdifferenz.

Specimen	Farbe	Aussehen	Zusatz (µl)	pH	Δ A
Std. neg.					0,544
Std. low					0,606
Std. med.					0,697
Urin 1	hellgelb	klar		7,0	0,612
1	do	do	250 HCl	3,0	0,608
1	do	do	125 HCl	7,5	0,624
			125 NaOH		
1	do	do	250 Seife	7,0	0,598
1	do	do	700 Seife	7,0	0,555
1	dunkelgelb	do	250 OCl <sup>-</sup>	7,0	0,608
1	do	do	600 OCl <sup>-</sup>	7,0	0,557
2	dunkelgelb	klar		7,5	0,648
2	do	do	250 HCl	6,5	0,646
2	do	do	800 HCl	3,5	0,614
2	do	do	400 HCl	8,0	0,642
			400 NaOH		
2	do	do	250 Seife	7,5	0,603
2	do	do	700 Seife	7,5	0,559
2	braun	do	250 OCl <sup>-</sup>	7,5	0,629
2	dunkelbraun	do	600 OCl <sup>-</sup>	7,5	0,589

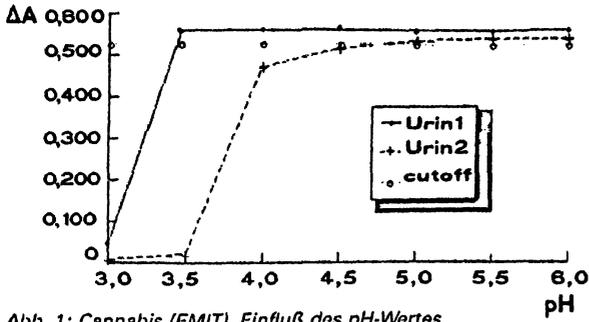


Abb. 1: Cannabis (EMIT). Einfluß des pH-Wertes

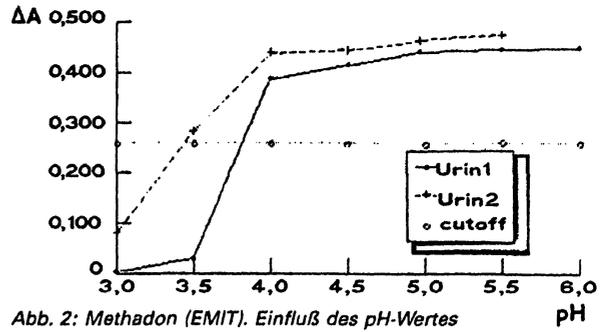


Abb. 2: Methadon (EMIT). Einfluß des pH-Wertes

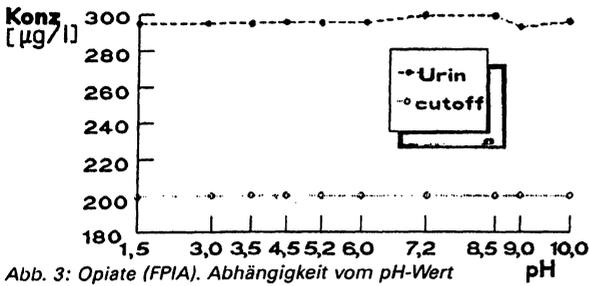


Abb. 3: Opiate (FPIA). Abhängigkeit vom pH-Wert

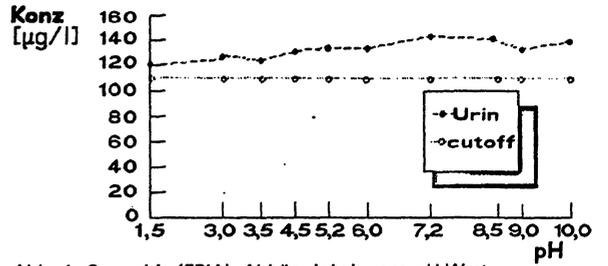


Abb. 4: Cannabis (FPIA). Abhängigkeit vom pH-Wert

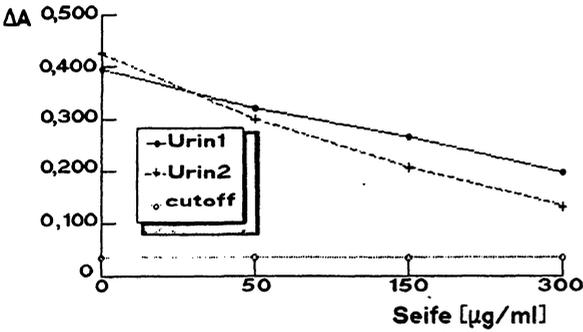


Abb. 5: Methadon (EMIT). Einfluß von Flüssigseife

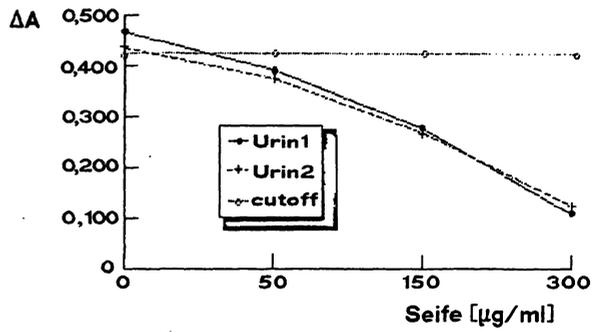


Abb. 6: Cannabis (EMIT). Einfluß von Flüssigseife

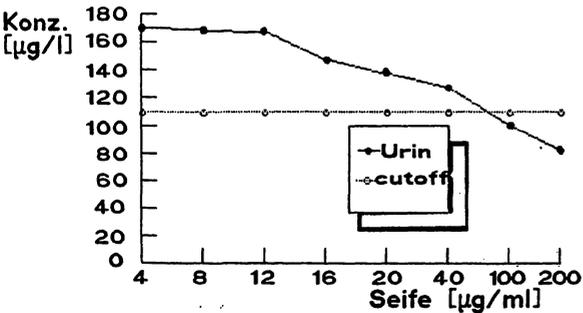


Abb. 7: Cannabis (FPIA). Einfluß von Flüssigseife

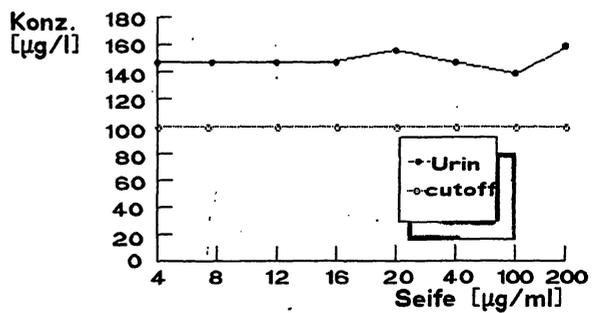


Abb. 8: Opiate (FPIA). Einfluß von Flüssigseife

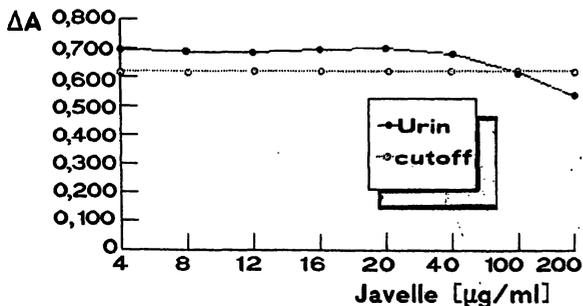


Abb. 9: Cannabis (EMIT). Einfluß von Javellewasser

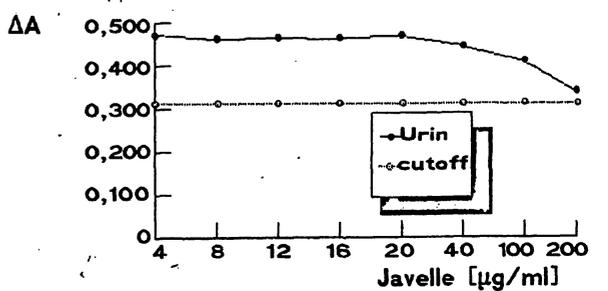


Abb. 10: Opiate (EMIT). Einfluß von Javellewasser

geneinnahme verstrichen ist. Vermutlich beruht die Wirkung des in „High Times“ propagierten Golden-Seal-Tea auf einer Steigerung der Diurese (1). Wasser ist aber auch ein Störfaktor, indem der gelöste Urin in vitro verdünnt werden kann. Maßnahmen gegen beide Interferenzen sind, den Probanden vor und während der Sammlung von einem Wasserhahn fernzuhalten sowie im Labor die relative Dichte ( $D_r$ ) und allenfalls die Kreatininkonzentration des Urins zu messen (Tab. 3).

**Kochsalz**, als Substanz zugegeben, stört insbesondere den EMIT (2). Genügende Mengen, um die Nachweise zu verfälschen ( $> 75$  g/l), verursachen stets relative Dichten  $> 1,035$  (3). Der Störfaktor kann somit durch Messung von  $D_r$  leicht erkannt werden.

Die Bedeutung der übrigen Störfaktoren ist außerordentlich unterschiedlich, abhängig von der Menge des Zusatzes und der Art des gewählten Nachweises: FPIA ist generell robuster als EMIT (4). Die empfindlichste Kenngröße ist anscheinend Cannabis (3, 4). Analytisch kann auch der Methadonnachweis gestört werden (Abb. 2); aus klinischer Sicht ist es freilich eher unwahrscheinlich, daß ein Proband hier verfälschend einzugreifen versucht.

Im einzelnen sind EMIT-Tests pH-abhängig; insbesondere im sauren Bereich unter pH 4,0 sind falsch-negative Resultate zu erwarten. Freilich genügen Zusätze von Zitronensäure oder Essigsäure aufgrund des pK kaum. Überdies ist Essigsäure am Geruch zu erkennen.

Bleichlösungen, WC-Reiniger etc. können **Hypochlorit** enthalten. In genügender Menge können sie erheblich stören, und zwar sowohl EMIT- wie auch FPIA-Methoden (3). Sie verändern in der Regel den pH in basischer Richtung, freilich kaum  $> 10$ . Die relative Dichte wird erhöht, freilich kaum  $> 1,025$ . Für die Erkennung ist man deshalb vorwiegend auf den Chlorgeruch angewiesen.

Zugabe von **flüssiger Seife** in genügender Menge, um das analytische Resultat zu beeinflussen, führt in der Regel zu wolkigen Trübungen des Specimens (3). Sie kann meist nur daran erkannt werden. Verschiebungen von pH und relativer Dichte liegen im Referenzintervall und können nicht als Hinweise verwertet werden.

Bei **Visine®** (Pfizer) handelt es sich um Augentropfen, und zwar um ein Kombinationspräparat aus Tetryzolinhydrochlorid und Benzalkoniumchlorid. Das Präparat ist rezeptfrei in Apotheken erhältlich. Seine verfälschende Wir-

Tab. 3: Maßnahmen gegen Verfälschung von Drogennachweisen im Urin

Einflußgröße/ Störfaktor	Maßnahme	suspekt wenn
Wasser (Verdünnung)	Fernhalten des Probanden von Wasser Messung von $D_r$ Messung von U-Kreatinin	$< 1,005$ $< 3$ mmol/l
NaCl	Messung von $D_r$	$> 1,035$
pH	Geruch (falls Essigsäure) pH-Messung	$< 5 / > 8$
Hypochlorit	pH-Messung Messung von $D_r$ Geruch	$> 8$ $> 1,025$
Flüssigseife	Aussehen	wolkig bis trüb
Visine®	-	-

kung wurde von Mikkelsen und Ash (1988) beschrieben. Zwar ist es nur beim EMIT-Cannabis-Nachweis wirksam, und erst in einer ca. 10mal höheren Dosis als etwa Seife oder Hypochlorit. Als Mechanismus postulieren Pearson et al. (1989) die Bildung von Mizellen durch den Benzalkonium-Anteil, in denen Cannabinoide sequestriert werden. Es ist hier erwähnt als Beispiel einer Verfälschungssubstanz, die – bisher – mit einfachen Labormethoden nicht entdeckt werden kann. Solcher sind wohl noch Legion!

Aus der skizzierten Situation sind zwei Konsequenzen zu ziehen:

– Drogennachweise sind in eine Verantwortungskette (engl. „Chain of Custody“ [6]) einzubetten. Alle Teilschritte sind angemessen zu dokumentieren (Abb. 11). Insbesondere ist der Proband vor und während der Urinengewinnung zu überwachen. Als Sammelgefäße sind ausschließlich solche des eigenen Laboratoriums zu verwenden. Eine zusätzliche Kontrollmöglichkeit besteht in einer

#### CHAIN OF CUSTODY FORM (URINE DRUG TEST)

Specimen Identification No. _____	Date Collected _____
Social Security No. _____	Facility _____
	Location _____

#### Collection Site Information

- Amount Collected \_\_\_\_\_ ml (approx.)
- Temperature \_\_\_\_\_ °C (Within 4 minutes of collection)
- Color Amber \_\_\_\_\_ Clear \_\_\_\_\_ Straw \_\_\_\_\_ Other \_\_\_\_\_
- Any unusual appearance \_\_\_\_\_
- Unusual behavior/appearance \_\_\_\_\_
- Proper identification (Explain if not) \_\_\_\_\_
- Recollection Required (Explain) \_\_\_\_\_

#### Chain of Custody

	Signature	Date	Time
1. Employee Name (Printed)	_____	_____	_____
2. Collection Site Person (Printed)	_____	_____	_____
3. Received by	_____	_____	_____
4. Received by	_____	_____	_____
5. Received by	_____	_____	_____
6. Received by	_____	_____	_____
7. Received by	_____	_____	_____
8. Received by	_____	_____	_____
9. Received by	_____	_____	_____
10. Received by	_____	_____	_____

#### Approved Drug Testing Laboratory

1. Released by	Signature _____	Date _____	Time _____
	No Signature Required If Released by U.S. Mail		
2. Received by	Signature _____	Date _____	Time _____
3. Condition Received In	Good _____ Damaged _____ Other _____		
<b>Disposition of Urine Specimen</b>			
<b>Frozen by</b>			
Name	Signature _____	Date _____	Time _____
<b>Removed from Freezer for Re-analysis by</b>			
Name	Signature _____	Date _____	Time _____
Name	Signature _____	Date _____	Time _____
<b>Destroyed by</b>			
Name	Signature _____	Date _____	Time _____
Reason for Destruction: Negative _____ Retained _____ (Months) _____			

#### Laboratory Director or Certifying Official

Notes: A certified copy of the original chain of custody form, signed by the laboratory director or laboratory certifying official.

Abb. 11: „Chain of Custody“ – Formular (Auszug, aus [6])

**Immer wieder neu und  
besser zu sein ...  
- nicht nur in der  
Klinischen Chemie -  
war seit jeher unser Ziel**

# CRP OPTIMIERUNG

von

**Rolf Greiner  
BioChemica**

**Analytica: Halle 5, Stand 5A13**

- Linearität 400 mg/l
- Empfindlichkeit 5 mg/l
- Impräzision 1,3 – 3,8 %
- Einpunkt Kalibration
- Sicherheit
- Wirtschaftlichkeit
- Einfache Automatisierbarkeit
- Erprobte Automaten-  
anleitungen verfügbar

Fragen Sie uns auch nach den  
turbidimetrischen Tests zur Be-  
stimmung von

**IGG · IGA · IGM**

Weitere Tests wie z. B. Transfer-  
rin mit gleichem Prinzip in Vor-  
bereitung.



**Rolf Greiner BioChemica**

Vertriebsgesellschaft für  
biochemische und chemische  
Erzeugnisse mbH

Wiesenstraße 7 · 6251 FLACHT

Telefon: (0 64 32) 15 37

Telefax: (0 64 32) 613 79

Telex: 48 21 532

Temperaturmessung des Specimens unmittelbar nach  
der Gewinnung. Das Referenzintervall beträgt 35,8 bis  
38,0 °C (3).

– Im Laboratorium sind zusätzlich zu den verlangten  
Nachweisen Ergänzungsuntersuchungen, mindestens auf  
Aussehen, Geruch, pH und D, durchzuführen. Deren Re-  
sultate sind bei der Befunderstellung zu berücksichtigen,  
suspekte Urine sind zu annullieren (7).

Schrifttum:

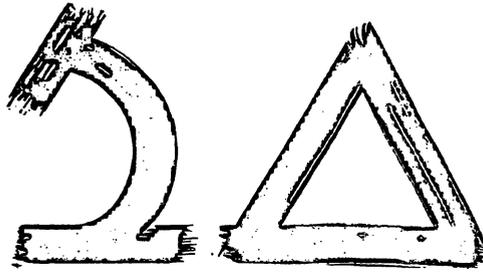
1. KELLY, K. L.: Accuracy and Reliability of Tests for Drugs of Abuse in Urine Samples. *Pharmacotherapy* 8, 263–275 (1988).
2. WARNER, A.: Interference of Common Household Chemicals in Immunoassay Methods for Drugs of Abuse. *Clin. Chem.* 35, 648–651 (1989).
3. MIKKELSEN, S. L., ASH, K. O.: Adulterants Causing False Negatives in Illicit Drug Testing. *Clin. Chem.* 34, 2333–2336 (1989).
4. ARVELA, P.: Comparison of two Commercially Available Screening Tests for Drugs of Abuse. Poster am 8<sup>th</sup> European Congress of Clinical Chemistry, Milano 1989.
5. PEARSON, S. D., ASH, K. O., URRY, F. M.: Mechanism of False-Negative Urine Cannabinoid Immunoassay Screenings by Vagine Eyedrops. *Clin. Chem.* 35, 636–638 (1989).
6. CHAMBERLAIN, Th. R.: Chain of Custody: Its Importance and Requirements for Clinical Laboratory Specimens. *Lab. Med.* 20, 477–480 (1989).
7. DAVIS, K. H., HAWKS, R. L., BLANKE, R. V.: Assessment of Laboratory Quality in Urine Drug Testing. *JAMA* 260, 1749–1754 (1988).

*Danksagung*

Für die Sekretariatsarbeiten danken wir Frau L. Debrunner.

Korrespondenzadresse:

Dr. phil. P. Hagemann  
Zentrallaboratorium  
Kantonsspital  
CH-8596 Münsterlingen



Die Funktion verändert die Form

**Neu!**

# Zeiss Mikroskop Standard 20

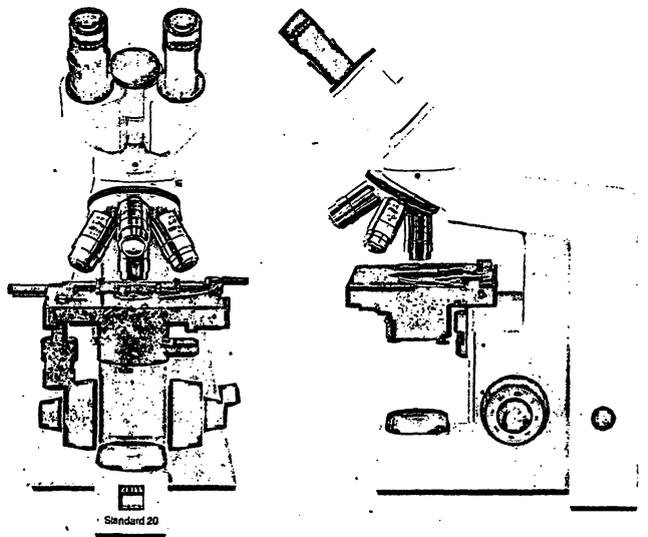
**Kompakt, ergonomisch. Sogar der Preis verblüfft.**

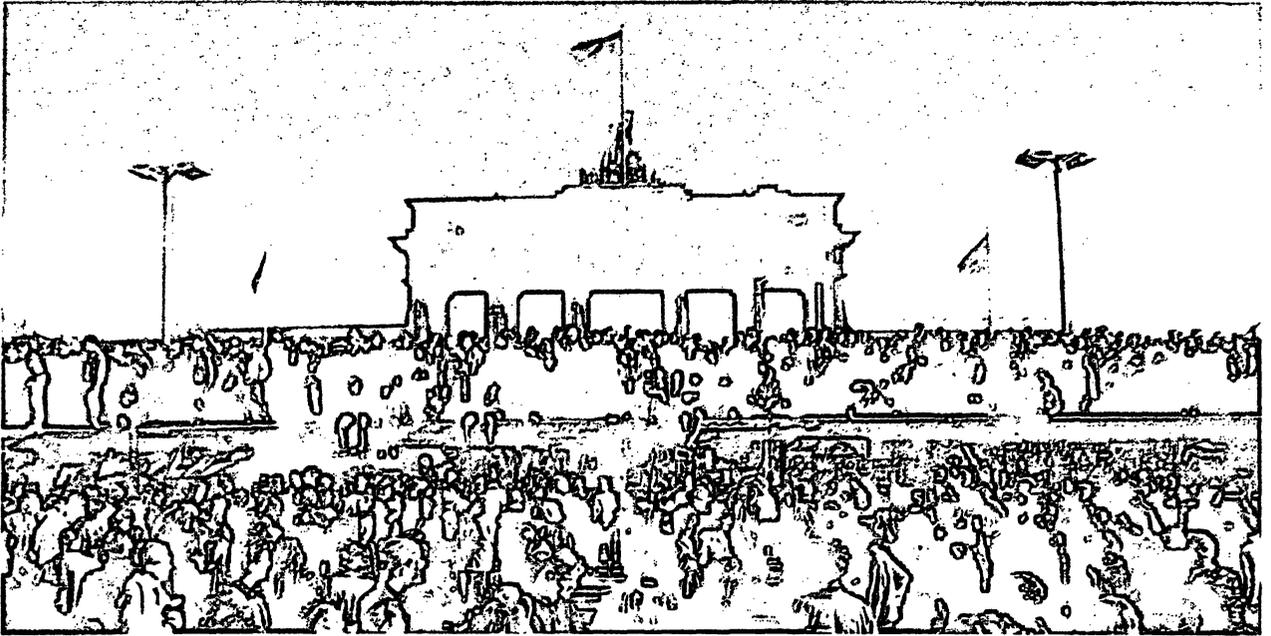
Für Labor und Praxis.  
Die neue Geometrie für Mikroskope.  
Optische Leistung in Zeiss Qualität.  
Ein neues Mikroskop, das Sie kennenlernen müssen.  
Möglichst schnell.



Die kleine Pyramide  
mit der großen Leistung.

Carl Zeiss  
Geschäftsbereich Mikroskopie  
D-7082 Oberkochen





© dpa

# Verschenken Sie Laboratoriumsmedizin an Kollegen in der DDR!

Machen Sie Ihren Freunden, Bekannten oder Kollegen in der DDR eine ganz besondere Freude. Verschenken Sie ein Jahresabonnement Laboratoriumsmedizin.

An Verlag Kirchheim, Abonnement-Service, Postfach 25 24, 6500 Mainz 1

## Bestellschein

(Zutreffendes bitte ankreuzen)

### Hiermit bestelle ich

Name/Vorname

Straße

PLZ/Wohnort

### ein Geschenkabonnement für

Name/Vorname

Straße

DDR/PLZ/Wohnort

Hiermit übernehme ich die Patenschaft für ein Laboratoriumsmedizin-Abonnement nach Ihrer Auswahl in der DDR für ein Jahr/DM 126,50, ab Monat \_\_\_\_\_

Ich zahle den angekreuzten Betrag nach Erhalt Ihrer Rechnung.

Der Rechnungsbetrag soll von meinem Konto abgebucht werden:

Bankleitzahl (vom Scheck abschreiben)

Konto-Nr.

Name der Bank

Datum und Unterschrift des Bestellers

Sie garantieren mir, daß ich diese Vereinbarung schriftlich innerhalb von 10 Tagen durch Mitteilung an Verlag Kirchheim, Postfach 25 24, 6500 Mainz 1, widerrufen kann. Zur Wahrung der Frist genügt die rechtzeitige Absendung des Widerrufs.

Datum und Unterschrift

Lab. med. 3/90