



JÖNKÖPING UNIVERSITY
School of Health and Welfare

Utvärdering av sensitivitet och specificitet för Acro Biotech Multitest 15 vid drogscreening

HUVUDOMRÅDE: *Klinisk kemi*

FÖRFATTARE: *Mattias Lundgren, Madeleine Suba*

HANDLEDARE: *Pär Gustafsson, Sandra Karlsson, Diana Samano*

EXAMINATOR: *Emma Carlsson*

JÖNKÖPING 2019 Juni

Sammanfattning

Akut- och psykiatriska avdelningar på länsjukhuset Ryhov i Jönköping använder sig av snabbtest för drogscreening med varierande kvalitet under de tider då analysinstrumentet Konelab Prime 30i inte är bemannat. Syftet med studien var att utvärdera sensitivitet och specificitet hos Multitest 15 från tillverkaren Acro Biotech, och jämföra resultat från två olika avläsningstider. Antalet urinprover som samlades in för analys uppgick till 272. Positiva och negativa urinprover med drogkoncentrationer inom $\pm 50\%$ från varje drogs gränsvärde insamlades. Senare inkluderades drogkoncentrationer utanför detta intervall. Proverna testades med Multitest 15 vid laboratoriet för klinisk kemi på Ryhov efter utförd analys med Konelab Prime 30i, vars analysresultat utgjorde referens. De droger som testades var amfetamin, metamfetamin, ecstasy, bensodiazepiner, buprenorfin, kokain, metadon, morfin, THC, oxykodon och tramadol. För alla droger sammantaget var sensitiviteten 86,7% - 100%, specificiteten 33,3% - 100% och träffsäkerheten 71,4% - 94,7%. Provurvalet inom intervallet $\pm 50\%$ från gränsvärdet var begränsat, vilket avsevärt påverkat dessa beräkningar, och Konelab Prime 30i använder semikvantitativ metod vilken endast ger approximativa koncentrationsvärden som referens.

Nyckelord: snabbtest, gränsvärde, träffsäkerhet, urin, droger

Summary

Evaluation of sensitivity and specificity of Acro Biotech Multitest 15 at drug screening.

The emergency and psychiatric wards on the county hospital Ryhov in Jönköping utilize on-site drug testing with varying quality during evenings and night-time when no staff are operating the chemistry analyzer Konelab Prime 30i. The aim of the study is to evaluate the performance of sensitivity and specificity of Acro Biotech Multitest 15 and comparing results from two different reading-times. The number of urine samples collected for analysis was 272. Positive and negative urine samples with drug concentrations within $\pm 50\%$ from cut-off were collected. Later, concentrations outside of this range was included. The samples were tested with Multitest 15 at the laboratory for clinical chemistry at Ryhov after analysis with Konelab Prime 30i providing reference results. The drugs tested were amphetamine, methamphetamine, ecstasy, benzodiazepines, buprenorphine, cocaine, methadone, morphine, THC, oxycodone and tramadol. All drugs included, the sensitivity was 86.7% - 100%, the specificity 33% - 100% and the accuracy 71.4% - 94.7%. The sample selection within the range $\pm 50\%$ from the cut-off value was limited, which significantly affected these calculations, and Konelab Prime 30i uses a semi-quantitative method only providing approximate concentration values for reference.

Keywords: one-site testing, cut-off value, accuracy, urine, drugs

Innehållsförteckning

Inledning	1
Bakgrund	1
Narkotika och dess tillgång.....	1
Urin som provmaterial vid drogscreening	2
Droger och deras metaboliter	2
Opioider.....	2
Centralstimulantia	3
Cannabisprodukter	4
Läkemedel	4
Detektionstid	4
Analys av droger och deras metaboliter	5
Acro Biotech Multitest 15	5
Konelab Prime 30i.....	6
Syfte	6
Material och metod	7
Provinsamling	7
Utförande av Multitest 15	8
Statistisk analys.....	8
Etiska överväganden	9
Resultat	10
Fördelning av antal prover per koncentrationsintervall	10
Sensitivitet, specificitet och träffsäkerhet.....	14
Diskussion	16
Betydelsen av sensitivitet och specificitet	16
Träffsäkerhet	17
Avläsning och avläsningssvårigheter	17
Gränsvärden mellan snabbstickor och laboratorieinstrument	18
Statistisk styrka.....	19
Begränsningar och felkällor	19
Perspektiv	20
Slutsatser	20
Referenser	21

Inledning

I Sverige utförs droganalyser vid misstänkt droganvändning inom hälso- och sjukvård, beroendevård, socialtjänster, skolor, arbetsplatser, kriminalvård och polisverksamheter. Drogtesternas resultat kan medföra påtagliga konsekvenser vid körkorts- och anställningsärenden samt vårdnadstvister, men även styra vilken typ av behandling som ska användas för att avhjälpa missbruket (1, 2). För att reducera antalet narkotikarelaterade dödsfall är det viktigt att kontrollera, behandla och följa upp personer som missbrukar narkotika, och i denna process har drogtesterna en stor och viktig roll (3). Drogtesterna är uppdelade i två delar där första delen är sållningsanalysen (screening) som både kan utföras på helautomatiska instrument på laboratorier eller genom patientnära analyser som urinstickor. Den andra delen är verifikationen som identifierar och haltbestämmer de prover som gett preliminärt positivt svar vid screeningen (1).

På länssjukhuset Ryhov, Jönköping, utförs droganalyser på instrumentet Konelab Prime 30i (Thermo Scientific, USA) screening av droger i urin, men instrumentet är inte bemannat dygnet runt, vilket gör att andra metoder som snabbtester används. Psykiatriska akutenheter, akutmottagningar och psykiatriska avdelningar använder snabbtester i form av multistickor för att drogtesta urin. Det är viktigt för vårdpersonalen att veta vilka droger som akutintagna patienter har tagit för att förhindra administrering av läkemedel som innehåller substanser vilka kan förstärka drogens effekter. På marknaden finns ett antal företag som tillverkar snabbtester i form av drogstickor. Företagen kontaktar vårdavdelningar direkt för att sälja sina produkter, vilket medför varierande standard och kvalitet i vårdprocessen. För att erhålla en enhetlig standard har drogstickan Multitest 15 (Acro Biotech, USA) valts ut för denna studie för att utvärdera testets specificitet och sensitivitet.

Bakgrund

Narkotika och dess tillgång

Enligt narkotikastrafflagen (1968:64, 8§) definieras begreppet narkotika som läkemedel eller hälsofarliga produkter som har beroendeframkallande egenskaper eller euforiserande effekter. Det kan också vara produkter som kan omvandlas för att erhålla effekterna och egenskaperna som narkotika har. Även är det inräknat att varorna ska vara under uppsikt enligt internationell överenskommelse där Sverige ingår eller att Sveriges regering har förklarat att varan ska anses som narkotika enligt lagen (4). Droger och narkotikaklassade läkemedel kan hittas på internet och även vara insmugglade till Sverige. Syntetiska droger som är oftast framställda för att undvika narkotikaklassning har på senaste tiden blivit lättare att sprida vidare på missbruksmarknaden på grund av ökad tillgång på internet. Eftersom försäljningen sker via internet har dessa droger blivit kallade för nätdroger (5, 6).

Socialstyrelsen har genom dödsorsaksregistret följt antalen narkotikarelaterade dödsfall i Sverige (6). Begreppet narkotikarelaterade dödsfall har socialstyrelsen definierat som alla dödsfall där narkotika har varit av betydelse (7). Detta kan tolkas på två olika sätt, antingen har dödsorsaken orsakats av användandet av narkotikaklassade produkter enligt narkotikastrafflaget (1968:64) eller av narkotikamissbruk. Att kunna med säkerhet fastställa vilka faktorer som har varit inblandade i ett dödsfall är inte enkelt och oftast inte möjligt i

efterhand. Detta inkluderar möjligheten att fastställa ifall den inblandade substansen var narkotikaklassad eller inte och även om personen hade ett pågående eller tidigare missbruk som hade haft betydelse i dödsfallet. För att kunna utvärdera alla mått på narkotika- eller missbruksrelaterade dödsfall måste termerna sensitivitet och specificitet användas, där sensitivitet innebär att alla relevanta fall inom måttet upptäcks och specificitet där endast relevanta fall upptäcks (7). Under år 2015 dog totalt 950 personer på grund av läkemedels- och narkotikaförgiftningar där 70% var män och 30% kvinnor. Den högsta andelen dödsfall hos män var i åldersgruppen 25 - 29 år, medan det hos kvinnorna låg mellan 50 - 54 år (8).

Urin som provmaterial vid drogscreening

Urin är det vanligast förekommande provmaterialet vid droganalys, men dessa substanser kan även påvisas i material som svett, blod, saliv och hår. Njurarna filtrerar bort orenheter från blodet, vilket gör det möjligt att detektera drogs substanser i urin. Man kan upptäcka substanser i urin under en längre period än vid analys i blod. Detta beroende på att det tar tid för kroppen att metabolisera substanserna och eliminera dem genom njurarna. Den uppkoncentrering som sker av drogs substanser och dess metaboliter i urinen bidrar också till det bredare tidsfönstret för påvisning av droger i detta provmaterial. Graden av uppkoncentrering varierar dock och kan skapa problem vid kvantitativa analyser i urin. Ett intag av samma mängd drog kan resultera i olika urinkoncentrationer hos olika individer, men också skilja sig mellan prov från samma individ. Fördelarna med urin som provmaterial är en snabb provtagning, enkelt att samla stor provvolym samt att legitimerad personal ej krävs vid insamling (3).

Vid drogtest i urin för sjukvården görs provtagning under övervakning efter identitetskontroll genom legitimering och provets volym samt temperatur kontrolleras sedan enligt anvisningar. Vid körkortsärenden är förfarandet i stort detsamma, men vad gäller drogtest för arbetslivet så sker ingen övervakning (9). För varje urinprov som tas för drogtestning analyseras dess kreatininvärde i syfte att upptäcka manipulation. Denna analys utförs för att påvisa ifall urinen är onormalt utspädd och för att verifiera om provet består av mänsklig urin (10).

Droger och deras metaboliter

Droger indelas i olika undergrupper baserade på deras kemiska uppsättning och effekter på kroppen. I Sverige finns fem huvudgrupper för klassifikation av droger (11): opioider, centralstimulantia (12), cannabisprodukter, läkemedel och hallucinogener (11). I denna studie berörs fyra av dessa grupper:

Opioider

Opioider är ett samlingsnamn för alla ämnen som binder till en opioidreceptor, medan opiater används för alla ämnen som är naturliga och utvinns från vallmo (12). Opioider ger effekter som analgesi, sedativ och anestesi (13). I centrala nervsystemet finns kroppsegna opioider som reglerar många fysiologiska funktioner som exempelvis belöningseffekterna och smärtlindring. Systemets effekter varierar individuellt av både det naturliga belöningssystemet och beroendeframkallande droger (12). De opioider som ingår i Multitest 15 är morfin, metadon, oxykodon, buprenorfin och tramadol.

Morfin finns naturligt i opium (5) och som nedbrytningsmetabolit från olika opioider exempelvis heroin, kodein och etylmorfin (1). Kunskaper om den komplicerade metabolismen inom gruppen är viktig för korrekt tolkning av analysresultaten (5). Heroinets metabolism sker genom omvandling till 6-acetylmorfin och därefter till morfin (12). Slutligen nedbryts och utsöndras morfin som morfin 3- och 6-glukuronid (5, 12). Kodein och etylmorfin metaboliseras även till morfin (5) och för att säkerställa heroinintag analyseras metaboliten 6-acetylmorfin (12). Ungefär 10% av kodein som utsöndras i urin metaboliseras till morfin och de resterande till kodeinglukuronid. Vid analys ses halter både av kodein och morfin (12), men eftersom kodein elimineras snabbare än morfin kan detta leda till tolkningsfel vid analys. Vid ett stort kodeinintag kommer urinen att mestadels innehålla morfin efter något dygn (5). Etylmorfin utsöndras både som etylmorfinlukuronid och morfin. Vid analys av urin går det att detektera både etylmorfin och morfin efter intag av etylmorfin, men det kan hända att morfin dominerar mer än etylmorfin (12).

Metadon är en syntetisk opioid som används som substitution för behandling mot heroin-/opioidmissbruk genom att minska abstinensbesvären (12, 14). Vid kontroll för följsamhet av behandlingen eftersöks i urinen kontrollmarkörerna intakt metadon och etylidendimetyldifenylpyrrolidin (EDDP), vilka är metaboliterna från metadon (14). Oxykodon är ett läkemedel som används till smärtstillning, men har potential att vara beroendeframkallande. Kroppen metaboliserar en del av oxykodon till den aktiva substansen oxymorfon, men i urinen utsöndras till största delen oförändrad oxykodon och delvis också glukuronid (12). Buprenorfin är ett syntetiskt medel som används för behandling mot heroinberoende genom substitutionsterapi. Metaboliten av buprenorfin är norbuprenorfin och i urin utsöndras både den ometaboliserade och metaboliserade formen, men vid drogtestning är det buprenorfins som eftersöks (12). Tramadol är ett beroendeframkallande läkemedel som används för smärtstillning. Metabolismen av tramadol är att den demetyleras, men till största delen utsöndras tramadol i urin oförändrat (12).

Centralstimulantia

Med begreppet centralstimulantia avses droger som ger en ökad känsla av energi och ökar graden av vakenhet. De preparat i denna grupp som ingår i multitestet är amfetamin, metamfetamin, kokain och MDMA (Ecstasy). Centralstimulantia ger inte lika påtagliga kroppsliga abstinensbesvär som alkohol och opiater, utan medför främst ett upphov till psykiskt beroende. Bland symtomen märks sömnstörningar, oro, ångest och nedstämdhet (12). Amfetamin verkar främst genom att öka de extracellulära koncentrationerna av dopamin i hjärnan. Drogen kan utlösa psykos, det vill säga ett sjukdomstillstånd med störd verklighetsuppfattning (12). Metamfetamin är ett exempel på så kallade designer drugs, där en kemisk grupp adderats till grundmolekylen (12). De fysiologiska effekterna av metamfetamin är dämpad aptit, stimulans av centrala nervsystemet och en ökning av det sympatiska nervsystemets aktivitet. Metamfetamin utsöndras i urinen dels oförändrat och dels som amfetamin (15). Kokain förekommer vanligen som ett fint, vitt hydrokloridsalt. Drogens verkningsmekanism är blockering av återupptaget för frisatt dopamin och noradrenalin i synapserna. Då alkohol och kokain förekommer tillsammans bryts det ner till kokaetylen, vilket ger förhöjd risk för plötslig död (12). Drogen 3,4-metylendioximetamfetamin (MDMA) kallas ofta ecstasy, är klassad som hallucinogen och kan leda till emotionell labilitet (12). I urinen utsöndras drogen dels oförändrad och dels som fas I och II metaboliter (16).

Cannabisprodukter

Cannabis är även känt som marijuana eller ganja i växtform och som hasch i kådform. Den aktiva huvudkomponenten delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) finns i varierande koncentration i dessa former. Bland de negativa effekterna märks påverkan på minne, kognition, motorisk förmåga och reaktionstid liksom ångest, psykotiska symtom och framkallande av exempelvis schizofreni. Huvudmetaboliterna i urin är estrar av glukoronidsyra och THC-COOH eller fri THC-COOH (12).

Läkemedel

Läkemedel som blir narkotikaklassade grundar sig på ifall de orsakar skada eller framkallar beroende hos användaren. Det är Läkemedelsverket som godkänner alla läkemedel för användning i Sverige genom godkännande för olika kriterier med vetenskaplig anknytning, exempelvis rätt läkemedelseffekter, inga svåra biverkningar och exakt samma mängd verksamt ämne i varje dos vid tillverkningen (17). Vid utskrift av narkotikaklassade läkemedel via en läkare räknas det inte som missbruk, på grund av läkarens utbildning avseende dosering, bedömning och uppföljning av läkemedelsbehandling. Däremot vid användning av narkotikaklassade läkemedel utan recept eller läkemedel i höga doser klassas det som missbruk, på grund av likadant beroendebeteende för dessa läkemedel som för droger. Inom sjukvården används termen ”iatrogent beroende” som betyder att patienten har utvecklat ett beroende till sina läkemedel (17).

Bensodiazepiner är en läkemedelsgrupp, aktuell för denna studie, med liknande kemiska strukturer och effekter (12). Dessa läkemedel ges till personer med oro, ångest och sömnsvårigheter. Bensodiazepiner har som effekter som ångestdämpning, lugnande och muskelavslappning (17). Eftersom bensodiazepiner är en läkemedelsgrupp bildas det många unika metaboliter under metabolismen. Diazepam metaboliseras via nordiazepam och temazepam till oxazepam. Sobril som innehåller oxazepam och Temesta som innehåller lorazepam metaboliseras till glukuronidkonjugater som utsöndras ut i urin. Triazolam metaboliseras till hydroxyltrazolam, medan alprazolam omvandlas till hydroxylprazolam. Känslighetsvariationer inom de olika immunologiska screeningsmetoderna sker på grund av bildandet av de olika metaboliterna inom gruppen. Dessutom är detektionstiderna varierande för de olika läkemedlen beroende på dosstorleken och individens förmåga att bilda metaboliterna (12).

Detektionstid

Detektionstiden är ett mått på hur länge efter intag av drogen som den fortfarande kan upptäckas i kroppen (8). Denna tid går inte att bestämma med exakthet utan avgörs genom uppskattning (12). Detektionstiden skiljer sig mellan de olika provmaterialen där exempelvis blod har kortare detektionstid jämför med urin (18). Orsaken till uppskattningen av drogkoncentrationen är att vissa droger metaboliseras och utsöndras snabbare medan vissa droger kvarstår i kroppen under en lång tid (19). För att lyckas med att detektera substanserna krävs inte bara ett provtagningstillfälle efter senaste drogintag, utan även kunskaper om drogens uppbyggnad samt analysens specificitet antingen gentemot själva drogen eller dess metaboliter (19).

Det finns olika variabler som påverkar detektionstiden - bland annat den intagna dosens storlek, toleransutveckling, upprepningar och kontinuerliga doseringar, metabolisk förmåga, variationer vid provtagning och metodernas känslighet mot substansen (12).

Tabell 1. Detektionstider för olika droger och läkemedel i urin (20).

Drog	Detektionstid
Amfetamin/metamfetamin	48 tim
Bensodiazepiner	
Kortverkande	3 dagar
Långverkande	30 dagar
Kokainmetaboliter	2 – 4 dagar
THC	
Engångsanvändning	3 dagar
Måttlig användning	5 – 7 dagar
Daglig användning	10 – 15 dagar
Långsiktig användning	>30 dagar
Kodein	48 timmar
Heroin (morfin)	48 tim
Metadon	3 dagar
Morfin	48 – 72 tim
Oxykodon	2 – 4 dagar

Analys av droger och deras metaboliter

Acro Biotech Multitest 15

Tillverkaren uppger att drogtestet bygger på adsorptionskromatografi; ett immunologiskt test där drogen eller dess metabolit konkurrerar, med en på ett poröst membran immobiliserad och konjugerad drog, om bindningen till ett begränsat antal antikroppar. Dessa binder med färgämne till ett komplex som blandar sig med urinprovet och denna blandning vandrar genom materialet i teststickan. Separeringen sker alltså i huvudsak enligt skillnader i provkomponenternas adsorptionsaffiniteter till det aktiva ämnets yta. Om koncentrationen av den testade drogen är lägre än gränsvärdet kommer det färgade antikroppscomplexet att bindas till drogkonjugatet i zonen där avläsning sker och ett rosa streck framträder. Då urinprovet resulterar i ett positivt utfall har det färgade antikroppscomplexet bundit till drogen i provet (21). Tillverkaren uppger att i detta fall förblir avläsningszonen ofärgad och inget streck framträder. Ett rosa streck ska alltid framträda i kontrollzonen, vilket bekräftar att testet har fungerat. Om inget streck framträder är testet att betrakta som ogiltigt.

Konelab Prime 30i

Enligt tillverkaren tillämpar Konelab Prime 30i (Thermo Scientific, USA) kolorimetrisk, turbidimetrisk samt potentiometrisk mätmetod. Cloned enzyme donor immunoassay (CEDIA) (22) är en metod som används vid droganalyser. Metodprincipen för CEDIA är att enzymdonatorer är kovalent bundna till specifika haptener eller analyter. Tillsammans med enzymacceptorer sker spontana reaktioner där produkten blir enzymet β -galaktosidas, och med tillsättning av antikroppar riktade mot haptener eller analyten stoppas reaktionerna. Konkurrens mellan antikropparna och enzymdonatorer sker vid förekomst av den sökta analyten och detta leder till att koncentrationen av bildat β -galaktosidas är proportionell mot den okända mängden analyter, vilket beräknas genom hydrolysning vid tillsättning av enzymsubstrat (22).

Konelab Prime 30i har inte kapacitet att urskilja mellan amfetamin, metamfetamin och MDMA, utan anger resultaten som en grupp benämnd amfetamin/ecstasy. Multitest 15 har däremot stickor med specifika tester för dessa droger och påvisar därmed vilka av drogerna som urinprovet är positivt för. I laboratoriernas rapporter åtföljs mätresultaten alltid av uppgifter om referensintervall. Sådana gränsvärden kallas diskriminatorer eller "cut-off gräns". Cut-off, eller svenskans motsvarighet gränsvärde, innebär vid drogscreening den provkoncentration vid vilken resultatet skiftar från att benämnas negativt till att benämnas positivt (5).

Verifikation utförs i syfte att säkerställa resultatet av en positiv drogscreening eller som riktad analys där screeningmetod saknas. Verifikationsanalysen utförs alltid med en mer analytiskt selektiv metod. Vid analysen separeras de olika ämnena med vätske- eller gaskromatografi och detekteras med olika tekniker, främst mass-spektrometri som exempelvis Liquid Chromatography Mass Spectrometry (LC-MS) eller Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS) (23).

Syfte

Syftet med studien var att utvärdera specificitet och sensitivitet för Multitest 15 från tillverkaren Acro Biotech, och jämföra resultat från två olika avläsningstider.

Material och metod

Provinsamling

De 272 insamlade urinproverna analyserades mellan 1 april och 10 maj 2019 på avdelningen för klinisk kemi, länssjukhuset Ryhov, Jönköping, och de prover som valdes ut för denna studie var antingen dagsfärska eller frusna. Med dagsfärska urinprover menas prover som ankommit till laboratoriet och kylförvarats i 4 °C upp till 48 timmar. Frusna urinprover avser prover som överstigit 48 timmar i kyla och förvarades i -20 °C. Urinmängden per provrör uppgick till mellan 5 – 10 mL. Provtagningarna var utförda på vårdcentraler, sjukhus och institutioner inom Region Jönköpings län, undantaget oxykodonproverna som kom från Norra Älvsborgs Länssjukhus på grund av att Konelab Prime 30i inte analyserade för denna drog. Ett enskilt urinprov kan innehålla och testas för mer än en drog.

Efter utförd analys med Konelab Prime 30i (Thermo Scientific, USA) testades urinproverna med 375 enskilda stickor från Multitest 15 (Acro Biotech, USA). Antalsangivelsen avser varje enskild sticka, och analys utfördes mot följande elva droger: metadon (n=14), bensodiazepiner (n=40), buprenorfin (n=34), kokain (n=7), morfin (n=24), tetrahydrocannabinol (THC) (n=39), tramadol (n=39), oxykodon (n=20), amfetamin (n=40), metamfetamin (n=40) och MDMA (Ecstasy) (n=40). Även negativa urinprover (n=15) som visade negativt resultat för alla droger på Konelab Prime 30i testades med Multitest 15. Manipulationstester (n=23) har utförts både hos negativa urinprover och de urinprover som var misstänkta för manipulation.

Urvalet av urinprover som användes utgick initialt från ett intervall $\pm 50\%$ från varje drogs gränsvärde enligt datablad för Multitest 15, men senare under studiens gång inkluderades även urinprover med värden utanför detta intervall. Med andra ord användes både positiva och negativa urinprover. Tabell 2 nedan visar gränsvärdet för varje drog för Multitest 15 och Konelab Prime 30i respektive intervallet mellan $\pm 50\%$ från gränsvärdet.

Tabell 2. Gränsvärdet för varje drog på Multitest 15 och Konelab Prime 30i samt intervallerna på $\pm 50\%$ från gränsvärdet. Gränsvärden för oxykodon på Konelab Prime 30i saknas på grund av att instrumentet inte analyserade denna drog.

Drog	Drogernas gränsvärde		
	Multitest 15 (ng/mL)	Konelab Prime 30i (ng/mL)	$\pm 50\%$ intervall Multitest 15 (ng/mL)
Amfetamin, metamfetamin och ecstasy	500	500	250 – 750
Kokain	150	150	75 – 225
Oxykodon	100	-	50 – 150
Metadon	200	100	100 – 300
Buprenorfin	5	10	2,5 – 7,5
Morfin	300	300	150 – 450
THC	20	20	10 – 30
Bensodiazepiner	200	200	100 – 300
Tramadol	100	200	50 – 150

Alla urinprover som användes för testning avhålldes i två mikrorör (P/N 72.694.105, Sarstedt, Nümbrecht, Tyskland) fördelat på 2 mL urin vardera. Det ena mikroröret användes för testning av Multitest 15, medan den andra mikroröret frysförvarades för eventuella kompletteringar och omkörningar.

Utförande av Multitest 15

Från Multitest 15 (Acro Biotech, USA) avlägsnades varje sticka för sig och doppades i urin för de droger som testades. Stickorna doppades under 10 – 15 sekunder och lades därefter på en icke-absorberande plan yta. Avläsningen av resultaten för alla droger genomfördes efter fem respektive tolv minuter genom observation av kontroll- samt testband. Enligt metodbeskrivningen för Multitest 15, ska avläsningen ske mellan 5 – 10 min efter att stickan har doppats i urinen. För att se om resultaten på stickorna förändrades efter detta tidsintervall gjordes en avläsning också efter tolv minuter. Vid test av negativa urinprover tejpades skyddshylsan för att förhindra läckage av urin. Hylsan fylldes med urin och därefter doppades en komplett multisticka ner i provmaterialet enligt metodbeskrivningen.

I manipulationstestet ingick pH- samt kreatinintest som utfördes för de urinprover där misstanke om manipulation förelåg. Totalt utfördes 23 manipulationstester på urin, och där ingick buprenorfin (n=2), bensodiazepiner (n=1), morfin (n=3), tramadol (n=2) samt negativa urinprover (n=15). Manipulationstestet utfördes genom att manipulationsstickan doppades i urin i 10 – 15 sekunder och resultaten avlästes efter 3 – 5 minuter genom att jämföra färgförändringar på stickan med medföljande färgkartan.

Resultatavläsning har gjorts interobserveriskt, vilket innebär att flera personer avläser samma provresultat och ger varsin bedömning. Bedömningen falskt positiv/negativ gjordes med drogkoncentrationsvärdet från analysen med Konelab Prime 30i som referens. Om detta värde exempelvis låg på en nivå där en teststicka från Multitest 15 enligt databladet ska uppvisa ett negativt resultat, men istället uppvisade ett positivt resultat, då betecknades teststickans resultat som falskt positivt och vice versa. Prover som bedömdes falskt positiva eller falskt negativa på grund av olikheter mellan resultaten från Konelab Prime 30i och Multitest 15, skickades till Rättsmedicinalverket Rättskemi i Linköping för verifikation med LC-MS teknik.

Statistisk analys

För den statistiska analysen utfördes manuella beräkningar av sensitivitet och specificitet. Histogrammen skapades med IBM SPSS Statistics (IBM Corporation, Armonk, NY). Resultatet från drogscreeningen klassificerades i kategorier för varje drog: sann positiv, sann negativ, falsk positiv och falsk negativ, se Tabell 3.

Tabell 3: Korstabell som användes för klassificering av resultaten mellan Konelab Prime 30i och Multitest 15 i kategorierna sant positiva/negativa och falskt positiva/negativa.

		Konelab Prime 30i	
		POS	NEG
Multitest 15	POS	SANT POS	FALSKT POS
	NEG	FALSKT NEG	SANT NEG

Utifrån kategorierna beskrivna i Tabell 2 beräknades sensitivitet, specificitet och träffsäkerhet för respektive drog enligt följande formlerna:

$$\text{sensitivitet} = \frac{\text{Sant positiva}}{\text{sant positiva} + \text{falskt negativa}}$$

vilken syftar till att fastställa förmågan hos analysen att detektera små mängder av substansen korrekt,

$$\text{Specificitet} = \frac{\text{sant negativa}}{\text{falskt positiva} + \text{sant negativa}}$$

för att fastställa analysens förmåga att enbart mäta den sökta substansen, och

$$\text{Träffsäkerhet} = \frac{\text{sant positiva} + \text{sant negativa}}{n}$$

där n innebär det total antalet för respektive drog och används vid beräkning av hur väl mätresultaten reproduceras vid upprepade mätningar på samma prov.

Etiska överväganden

Urinproverna aidentifierades och märktes om inför studien vilket innebär att ingen koppling till provlämnarens identitet föreligger. Ingen koppling till provlämnaren förekommer i texten. Det provmaterial som ingick i studien har kasserats. Arbetet följer regelverket för tystnadsplikt och sekretess inom vården. Ingen kontakt med provlämnaren har skett under studiens gång. En etisk egengranskning enligt Hälsohögskolans anvisningar genomfördes, och enligt granskningen innehåller inte denna studie sådant som enligt etikprovningenslagen kan identifieras som etiskt känsligt.

Resultat

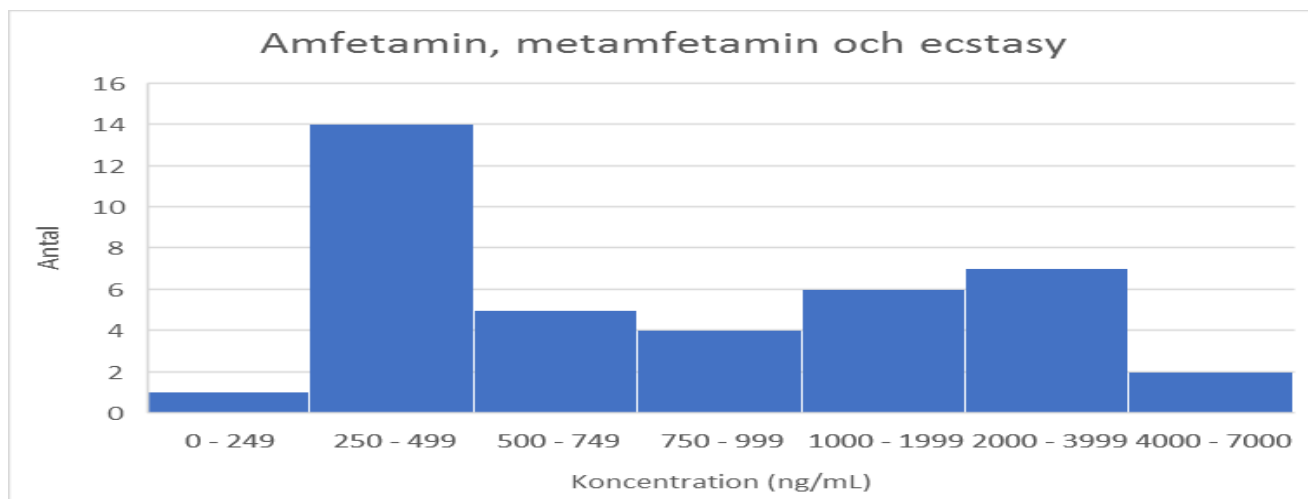
Av 375 enskilda drogstickor som testades på de 272 insamlade urinproverna var 154 av drogstickorna sant positiva, 160 sant negativa, 22 falskt positiva och 9 falskt negativa. Fyra prover kategoriserades avvikande på grund av skiftande resultat mellan de två avläsningstiderna och exkluderades i beräkningen av sensitivitet, specificitet och träffsäkerhet. Till ovanstående antal tillkommer de 23 teststickor som användes för manipulationstestet.

Av de ursprungligen 172 negativa proverna exkluderades tre prover på grund av att det ena blev positivt för manipulation och de resterande två på grund av osäkra tolkningar på manipulationstestet. Antalet svårlästa stickor, som inte exkluderades från det totala antalet, uppgick till sammanlagt 48 (13,4% av 375 totalt antal testade), med fördelningen: amfetamin (n=6), tramadol (n=5), oxykodon (n=5), kokain (n=4), morfin (n=6), tetrahydrocannabinol (n=9), bensodiazepiner (n=10) och buprenorfin (n=3).

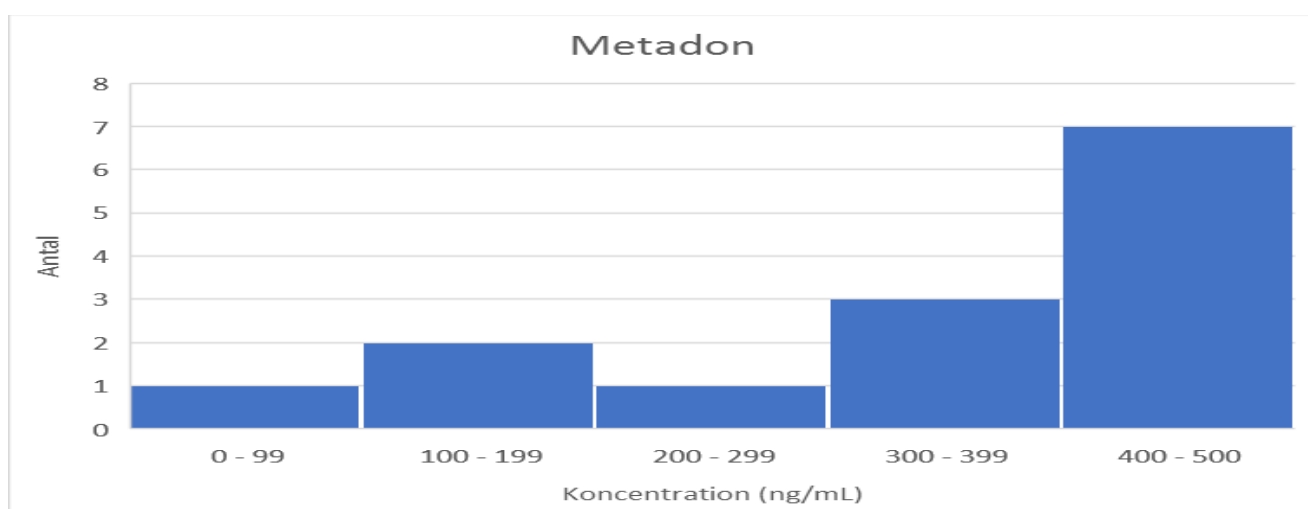
Fördelning av antal prover per koncentrationsintervall

Medelvärdet för amfetamin/metamfetamin/ecstasy-proverna uppgick till c.a 1291 ng/mL, den lägsta koncentrationen 219 ng/mL och den högsta 6903 ng/mL. Antalsfördelning per koncentrationsintervall framgår av Figur 1a. För metadon var medelvärdet 341,6 ng/mL, lägsta koncentrationen 96 ng/mL och högsta 432 ng/mL. Figur 1b visar fördelningen av antalet metadonprover per koncentrationsintervall. Medelvärden samt antalsfördelning per koncentrationsintervall för övriga droger i testet framgår av Figur 1c – 3c.

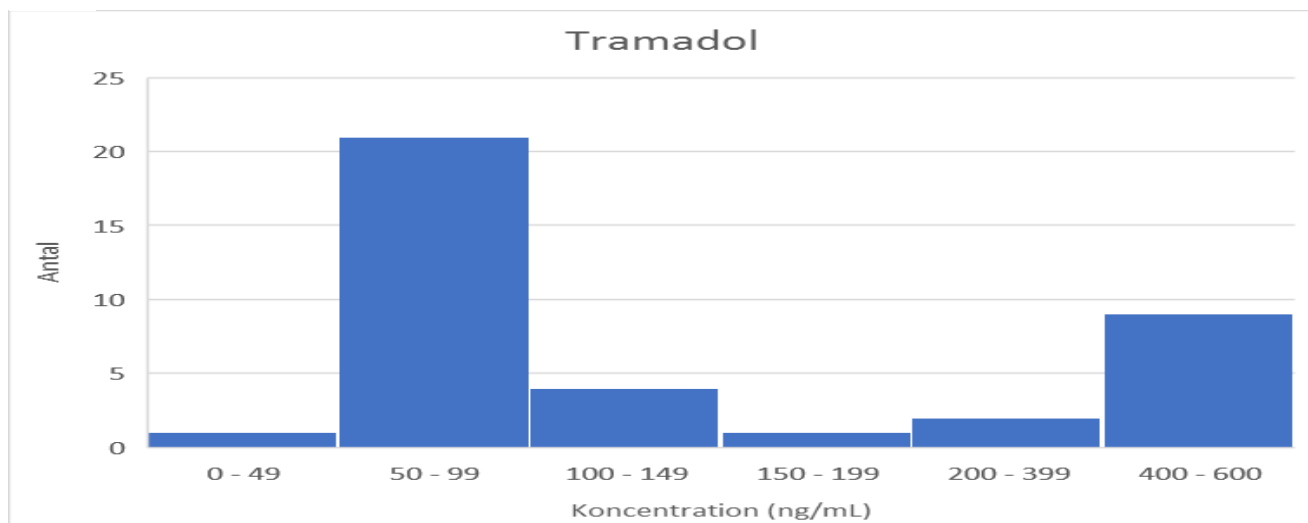
a)



b)

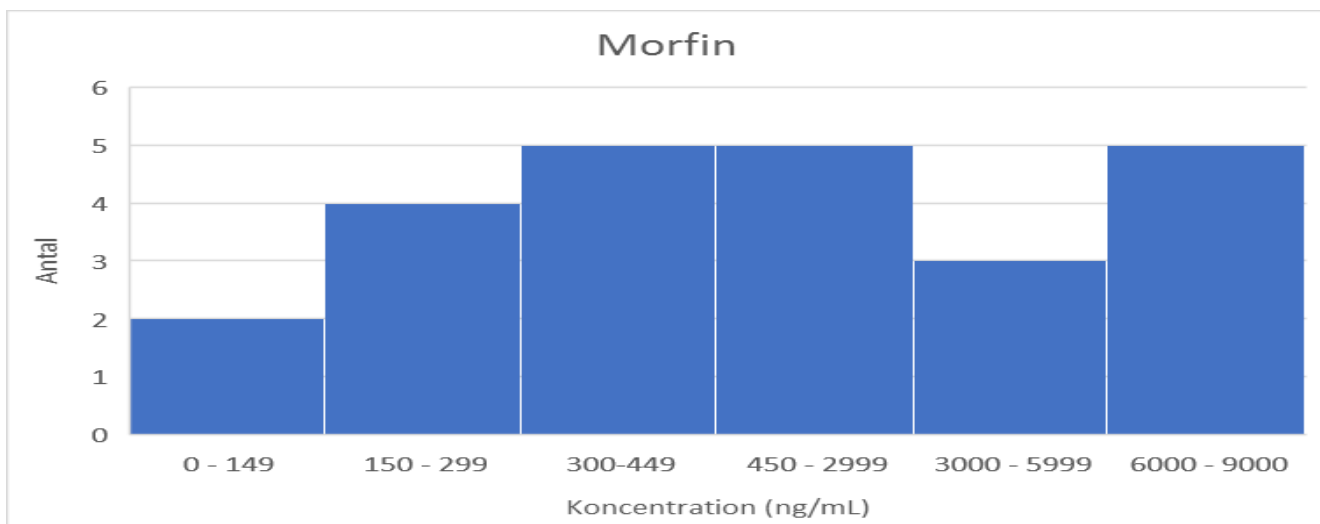


c)

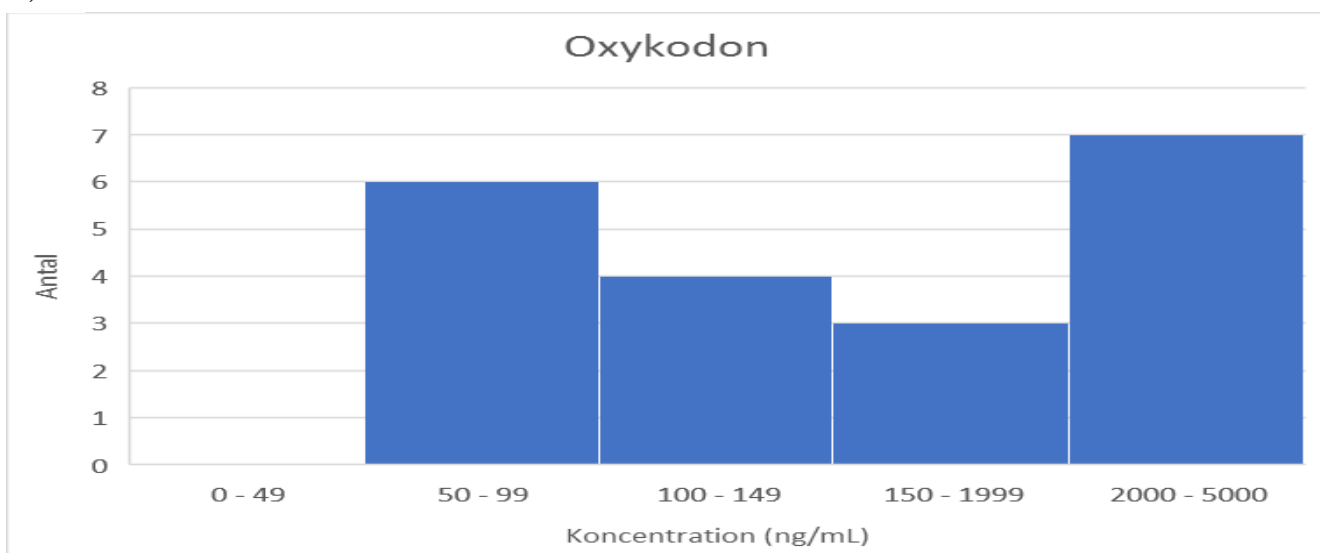


Figur 1: Fördelningen av antal prover per koncentrationsintervall för a) amfetamin, metamfetamin och ecstasy (gränsvärden 500 ng/mL, $\pm 50\%$ intervall 250 – 750 ng/mL), b) metadon (gränsvärden 200 ng/mL, $\pm 50\%$ intervall 100 – 300 ng/mL) och c) tramadol (gränsvärden 100 ng/mL, $\pm 50\%$ intervall 50 – 150 ng/mL).

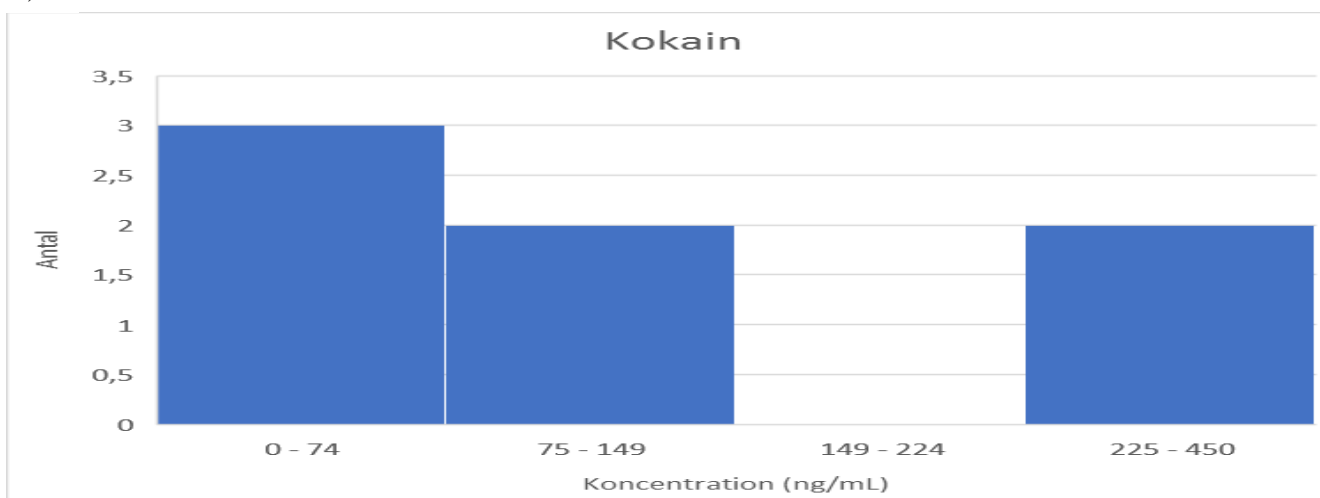
a)



b)

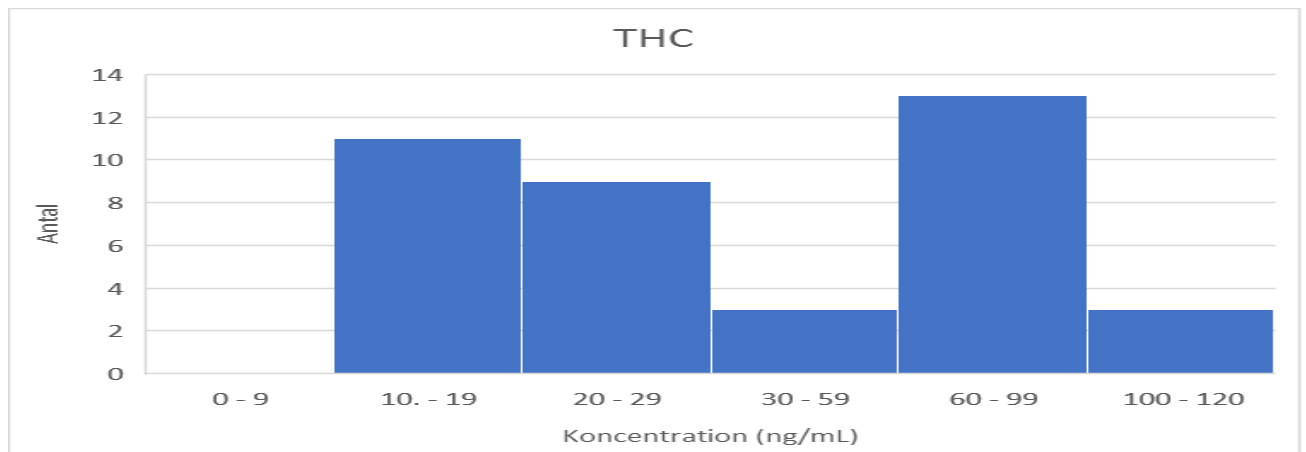


c)

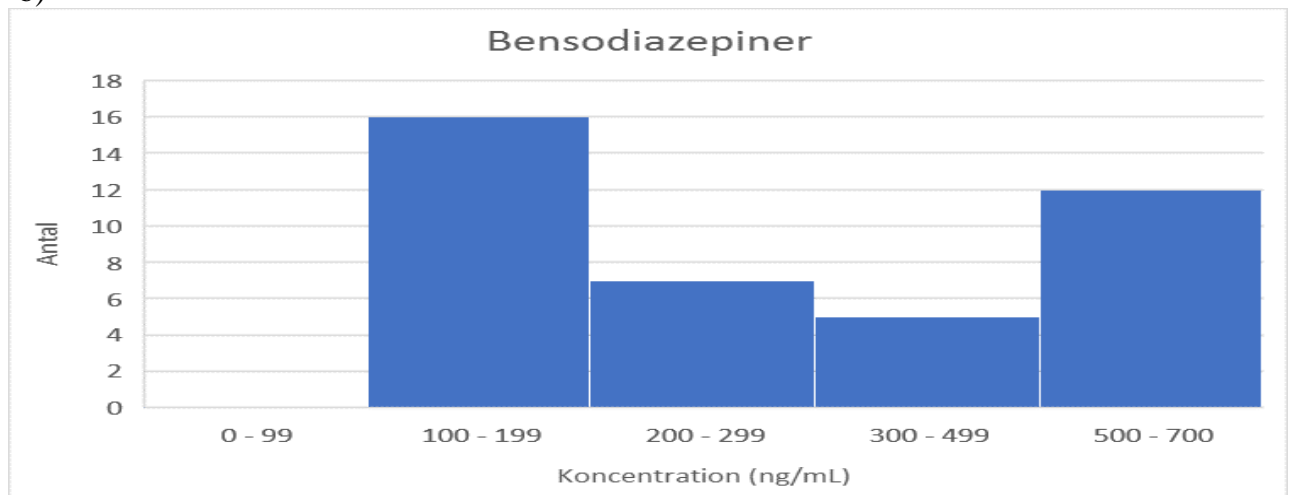


Figur 2: Fördelningen av antal prover per koncentrationsintervall för a) morfin, b) oxykodon (gränsvärden 100 ng/mL, $\pm 50\%$ intervall 50 – 150 ng/mL) och c) kokain (gränsvärden 150 ng/mL, $\pm 50\%$ intervall 75 – 225 ng/mL).

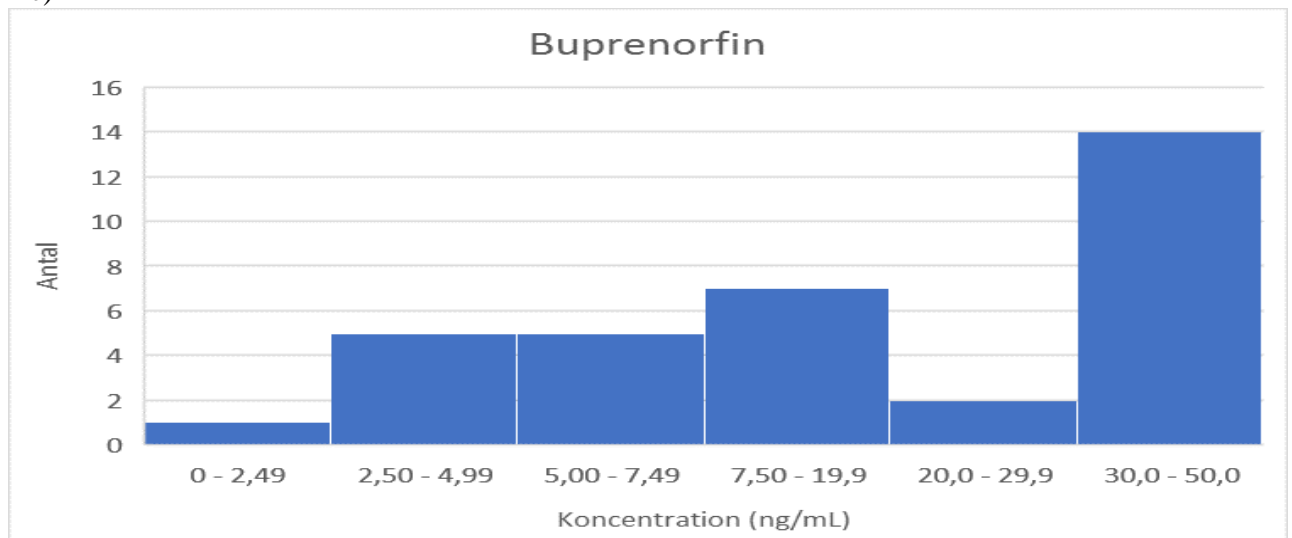
a)



b)



c)



Figur 3: Fördelningen av antal prover per koncentrationsintervall för a) tetrahydrocannabinol (THC) (gränsvärden 20 ng/mL, $\pm 50\%$ intervall 10 – 30 ng/mL), b) bensodiazepiner (gränsvärden 200 ng/mL, $\pm 50\%$ intervall 100 – 300 ng/mL) och c) buprenorfin (gränsvärden 5 ng/mL, $\pm 50\%$ intervall 2,5 – 7,5 ng/mL).

Sensitivitet, specificitet och träffsäkerhet

Tabell 4 nedan visar provernas klassificering efter kategorierna sant/falskt positiva/negativa samt avvikande. Av de 120 proverna amfetamin/metamfetamin/ecstasy blev ett prov avvikande eftersom avläsningen efter fem minuter visade ett positivt resultat och vid avläsning efter tolv minuter hade resultatet skiftat till negativt. För tramadol förekom ett avvikande prov där resultatet först var positivt och skiftade sedan till negativt vid andra avläsningen. Två prover med morfin blev avvikande där det ena först blev positivt och sedan skiftade till negativt. För det andra provet blev resultatet det omvända: det vill säga först negativt och sedan positivt.

Tabell 4. Antalen sant/falskt positiva/negativa för varje analyserad drog. Avvikande är de prover som hade skiftande resultat mellan de två avläsningstiderna.

Droger	(++)	(--)	(-+)	(+-)	Avvikande	N
Amfetamin, metamfetamin, ecstasy	24	87	7	1	1	120
Metadon	11	1	2	-		14
Tramadol	14	22	1	1	1	39
Oxykodon	14	3	3	-		20
Kokain	2	2	3	-		7
Morfin	13	6	-	3	2	24
Tetrahydrocannabinol (THC)	27	9	2	1		39
Bensodiazepiner	24	12	4	-		40
Buprenorfin	25	6	-	3		34
Drogfria prover	-	12	-	-		12
Totalt	154	160	22	9	4	349

(++) Sant positivt, (--) sant negativt, (-+) falskt positivt, (+-) falskt negativt, n=antal stickor

Generellt beräknat av alla deltagande drogerna testade på Multitest 15 hamnade de procentuella värdena för sensitivitet mellan 86,7% - 100%, och för specificitet mellan 33% - 100%. Av de drogerna med relativt god representation inom intervallet $\pm 50\%$, räknat från gränsvärdet, utmärker sig buprenorfin och tramadol. Multitestets specificitet för buprenorfin uppgick till 100% samt 92,6% för sensitiviteten. För tramadol var samma siffror 95,6% respektive 93,3%. Vad gäller specificitet och sensitivitet för övriga droger som ingår i multitestet, se Tabell 5.

Träffsäkerheten låg generellt mellan 71,4 – 92%, där kokain hamnade lägst på 71,4%, medan multitestet uppvisade en träffsäkerhet på 94,7% för tramadol. De resterande drogernas procentvärden framgår av Tabell 5.

Tabell 5. Sensitivitet, specificitet samt träffsäkerhet för de testade drogerna hos Multitest 15.

Drog	Sensitivitet	Specificitet	Träffsäkerhet
Amfetamin/Metamfetamin/Ecstasy	96%	92,5%	89,7%
Metadon	100%	33%	85,7%
Tramadol	93,3%	95,6%	94,7%
Oxykodon	100%	50%	85%
Kokain	100%	50%	71,4%
Morfin	86,7%	100%	90,9%
Tetrahydrocannabinol (THC)	96,4%	72,7%	89,7%
Bensodiazepiner	100%	75%	90%
Buprenorfin	92,6%	100%	94,1%

Diskussion

I denna studie undersöktes tillförlitligheten för Multitest 15 från tillverkaren Acro Biotech. Multitest 15 är ett kvalitativt screeningstest mot droger i urin. Syftet med studien var att utvärdera specificitet och sensitivitet för testet och jämföra resultat från två olika avläsningstider. Multitestets resultat jämfördes med resultat från det semi-kvantitativa analysinstrumentet Konelab Prime 30i, och utgångsmaterialet var urinprover insamlade för drogscreening. De enheter som skulle kunna dra nytta av en studie som denna är akutmottagningar, psykiatriska akutmottagningar och psykiatriska avdelningar som använder snabbtester för drogscreening i rutin vid jourtider. Det är viktigt att dessa avdelningar använder drogstickor som ger hög sensitivitet och specificitet för att få låg andel falskt positiva och falskt negativa resultat, vilket får konsekvenser vid behandling och omhändertagande för patienter.

Studien resulterade emellertid i bristfällig information om Multitest 15s sensitivitet, specificitet och precision av olika anledningar som diskuteras nedan. Det finns emellertid ett flertal liknade studier som har undersökt prestanda, träffsäkerhet och tillförlitlighet hos urinstickor för drogscreening från olika tillverkare.

Betydelsen av sensitivitet och specificitet

Var fokus bör ligga vid utvärdering av en drogstickas sensitivitet och specificitet, inklusive riskerna med falskt positiva/negativa resultat, är något som alltid ska beaktas, oavsett i vilken sammanhang stickan ska användas. Enligt Beck et al. är det viktigast att beakta falskt negativa prover eftersom oupptäckta falskt positiva prover ger minskad trovärdighet i resultatet även om provet blir analyserat på ett laboratorieinstrument (2). För Taylor et al. är det de falskt positiva som bör hållas under uppsikt eftersom det vid korsreaktioner med en kemiskt liknande substans medför att resultatet kommer att vara obemärkt vid analys på ett laboratorieinstrument. Det är via GC-MS som kan visa exakt vad provet innehåller och frånse laboratoriets resultat (24). En bilaga från Statens beredning för medicinsk och social utvärdering tar upp konsekvenser tester med låg sensitivitet och specificitet kan medföra. Det som sker vid låg specificitet är att riskera behandla friska individer, onödiga behandlingarkostnader och etiska konsekvenser, och för låg sensitivitet är risken att individen inte blir behandlad, risker för omgivningen och ärftliga risker (25).

Om dessa påståenden appliceras för drogscreening kan fall med låg specificitet där drogstickan visar falskt positivt resultat medföra att patienten får behandling i onödan med eventuell sjukhusvistelse som följd. Det kommer att kosta för sjukhuset med att behandla patienten i onödan och de etiska konsekvenserna är att patienten blir misstänkt för drogbruk och polis blir inblandad. Det som avgör om drogscreeningen har rätt eller fel är via verifikationen med GC-MC eller liknade metod, men detta kan ta några dagar vilket bli onödigt lidande för patienten.

Vid fall med låg specificitet med falskt negativa testresultat från en drogpåverkad patient finns risker för både patienten och samhället om resultaten inte korrigeras. För patienten kan livet vara i fara vid överdosering, eventuellt i kombination med alkohol eller andra droger. Två viktiga saker bör man här ha i åtanke. För det första borde stickan uppvisat reaktion på hög drogkoncentration långt över gränsvärdet och för det andra går det att se på patientens allmänna tillstånd vid överdosering, vilket gör att vårdpersonalen är i beredskap med behandling. Det som är viktigast för vårdpersonalen att veta är vilka droger patienten har tagit för att kunna ge adekvat behandling och undvika att förvärra tillståndet med fel medicinering.

En studie som jämförde tre olika snabbteststickor för drogscreening tar i diskussionen upp att stickorna uppvisar falskt positivt resultat på grund av korsreaktioner. Detta var på grund av antikropparnas specificitet som varierade mellan snabbteststickorna, men för att standardisera testerna används samma antikroppskomponent. Även om samma komponent används hos flera olika snabbteststickor finns det inga antikroppar som är exakt likadana, vilket är anledningen till variationen mellan snabbteststickorna (26). Det som studien inte tar upp i diskussionen är om antikropparna är poly- eller monoklonala. Polyklonala antikroppar är riktade mot liknande epitoper vilket tros ge ökad risk för korsreaktioner mot drogernas metaboliter. Detta är högst möjligt att det inte är i detta fallet utan det används monoklonala antikroppar eftersom metoderna som används i stickorna är högst accepterade. Då är det frågan om varför det sker korsreaktioner även vid användning av monoklonala antikroppar? En trolig orsak är att drogmetaboliterna, men även endo- och exogena substanser som har liknade epitoper som den sökta substansen binder till antikropparna vilket leder till falsk positiva resultat. Det är svårt att tillverka en screeningsticka som ger inga falska resultat, utan försöka minska antalen falska positiva/negativa reaktioner.

En annan punkt som artikeln diskuterar är att drogscreeningstickor som screenar hela drogklasser som exempelvis bensodiazepiner, opioider, amfetaminer med mera, har större variation på antikroppens sensitivitet mot drogerna inom klasserna. Detta gör att det krävs olika koncentrationer för varje individuell drog inom klassen för att åstadkomma en positiv reaktion, vilket medför att drogstickorna inte kommer att kunna detektera måttligt höga koncentrationer av drogen och dess metaboliter på ett korrekt sätt. Detta kan leda till falskt negativa resultat (26). Med Multitest 15 är drogerna inom centralstimulantia uppdelade med enskilda stickor för testning av amfetamin, metamfetamin, ecstasy och kokain. Detta gör att stickorna kan fokusera på en specifik drogs metaboliter och ge ett mer specifikt resultat för vilken drog som personen har tagit, istället för att uppskatta vilken drog som har blivit positiv om en sticka reagerade på alla drogerna inom gruppen.

Träffsäkerhet

Tillverkaren Acro Biotech har enligt egen uppgift utfört test med 250 urinprover per drogtyp och verifierat Multitest 15s resultat med GC-MS. Överensstämmelsen vid verifikationen av Acro Biotechs test visade på en träffsäkerhet mellan 71,4% och 94,7% för de 11 droger som ingick i denna studie. Dessa siffror skiljer sig markant från de resultat som tagits fram i detta arbete på grund av att tillverkaren hade flera urinprover per drog och hade tillgång till GC-MS som gav mera exakta resultat, jämfört med Konelab Prime 30i som gav ungefärliga resultat i detta fall. Enligt formeln för beräkning av träffsäkerhet ingick i formeln det totala antalet prover, vilket kunde ha påverkat träffsäkerheten på Multitest 15 på enstaka droger i jämförelse till Acro Biotechs test. I denna studien avsattes provmängden för varje drog på 40 prover, medan Acro Biotech testade uppemot 250 prover inom enskild drog.

Avläsning och avläsningssvårigheter

Avläsning vid två tidpunkter utfördes för att upptäcka eventuella förändringar av resultaten mellan rekommenderad tid för avläsning och efter. Anledningen till detta var att utvärdera om testresultatet kan stå sig i de fall avläsning av Multitest 15 försummas under det rekommenderade tidsintervallet mellan 5 – 10 minuter, till exempel om personen som utför testet går iväg eller blir uppmärksam på något annat och glömmer bort att avläsa resultaten. Fyra prover visade sig ha skiftande resultat mellan avläsningstillfällena, men detta skulle kunna röra sig om avläsningsfel eftersom teststrecken var mycket svaga vid båda avläsningstillfällena.

Vad som kan ha orsakat de svaga teststrecken kan ha varit att inte alla antikroppar hade blivit bundna till drogens riktade metabolit och hade istället bundit till färgkomponenter, som sedan har gett ett svagt färgomslag vid testzonen i en reaktion med drogkonjugaten. I dessa fall kan en säker bedömning vara svår att göra. I denna studie sågs inte stora distinktioner av resultaten vid avläsning inom rekommenderat tidsintervall respektive avläsning efter detta intervall. Tester för att studera om eventuella förändringar av resultaten uppträder vid senare avläsningstillfälle är ett ämne för framtida studier.

De stickor som bedömdes svårästa var på grund av att teststrecken inte var tydliga nog för att göra en säker bedömning. Majoriteten av stickorna som var svårästa hade testats på prover med svaga koncentrationer under gränsvärdet. En studie har också observerat att orsaken till svårästa stickor hade med låga koncentrationer att göra, mest hos cannabis (2). Detta kan kopplas till denna studie där stickor exponerade för tetrahydrocannabinol (THC) där nio stickor, varav alla med koncentrationer under gränsvärdet, också var svårästa. Den drog som visade sig mest svåräst var bensodiazepiner med tio stickor där alla som testades hade koncentrationer under gränsvärdet.

Gränsvärden mellan snabbstickor och laboratorieinstrument

Gränsvärdena för de olika droger som ingick i Multitest 15 stämmer huvudsakligen överens med Konelab Prime 30i, men hos vissa droger fanns det gränsvärden som skiljdes sig mellan dem. Dessa drogerna var metadon, tramadol och buprenorfin, och gränsvärdena skiljdes inte stort med några koncentrationer högre eller längre i jämförelse till Multitest 15. På grund av skillnader på gränsvärden mellan snabbstickor och laboratorieinstrument kan detta skapa problem på vad som ska räknas sant och falskt positiva/negativa och diskussioner mellan vårdavdelningar och laboratoriet kan uppstå. Ett scenario kan vara att flera patienter blir inlagda och behandlade på en vårdavdelning under en kväll på grund av positiva resultat från snabbstickor eftersom drogscreening på urin på laboratorieinstrumentet utförs inte på kvällarna. Morgonen därpå analyseras urinprover från dessa patienterna på laboratorieinstrumentet och resultaten visar sig vara negativa och på grund av detta kan förtroende mot både snabbstickan och laboratorieinstrumentet vara låg, men även etiska tolkningar blir en del av helheten. Överflödigt behandling på patienter blir en onödig kostnad för sjukhuset där pengarna istället ska gå till de patienter som behöver vård. I patienternas synsätt blir hela situationen tröttsamt och påfrestande när sjukvården inte vet helt säkert på sina metoder och hur resultatolöslingen ska struktureras på ett pålitligt sätt.

Laboratorier i Sverige som utför narkotikaanalyser samarbetar tillsammans för att alla ska ha gemensamma gränsvärden för olika drogklasser genom att delta i Equalis program där det ingår både immunologiska screeningmetoder och snabbtester. I en nationell inventering har förekomst av metoder/reagens, gränsvärden och rutiner för svarsutlämning, datasammanställning och statistik från olika laboratorier granskats och även en omfattande litteraturgenomgång har genomförts. Resultaten av inventeringen visade att 86% av deltagande laboratorier utförde narkotikaanalyser men endast 10% använder patientnära analyser. Det som har tagits hänsyn till är att många av dagens kommersiella screeningmetoder och kvalitetskontroller är mest anpassade efter Substance Abuse and Mental Health Service Administration (SAMHSA) och European Workplace Drug Testing Society (EWDTs) rekommenderade gränsvärden (1). Företagen tillverkar sina produkter för att kunna sälja dem globalt vilket kan vara orsaken till att de tar gränsvärden efter internationella riktlinjer som exempelvis SAMHSA och EWDTs, men i nationell nivå blir det problematiskt med varierande gränsvärden mellan produkterna och laboratoriets satta

gränsvärden. Eftersom laboratorierna i Sverige har upprätthåller ett samarbete för gemensamma gränsvärden måste företagen se över vad kunderna dvs laboratorierna vad de använder för gränsvärden på sina narkotikaanalyser och försöka anpassa dessa gränsvärden på sina produkter. På detta sätt minskar förvirringen av olika gränsvärden mellan snabbstickor och laboratorieinstrument och gör även snabbtesterna mer attraktiva att använda som komplementär metod för drogscreening.

Statistisk styrka

För statistisk tillförlitlighet bör urvalet av prover ha uppnått ett tillfredställande antal. Ett tillräckligt stort urval ökar testets statistiska styrka eller ”power”. Rent allmänt gäller att om större precision önskas behöver urvalet vara större. Kvantifierade precisionskrav finns inte alltid då undersökningar planeras. För att få fram precisionskrav diskuteras statistikens avsedda användning med beställare eller intressenter av statistiken (27). Så skedde också inför denna studie, och det minimiantal som diskussionen utmynnade i var 30 prover per drog inom det utvalda intervallet $\pm 50\%$ för ett statistiskt tillförlitligt resultat. En målsättning som inte uppfylldes för någon av de droger som ingick i denna studie. Som jämförelse kan Acro Biotech's precisionsberäkning av överensstämmelse mellan multitestet och verifikationsresultat med GC/MS nämnas, där 250 prover per drog utgjorde beräkningsunderlag.

I en studie användes 80 prover för testning av tre olika snabbteststickor och där uppgavs att tillförlitligheten av beräknad sensitivitet och specificitet var för låg på grund av det begränsade provurvalet (26). Som jämförelse hade denna studie efter inkludering av ett bredare intervall en avsatt provmängd på 40 prover per drog, en målsättning som trots denna inkludering inte uppfylldes för alla ingående droger. Hos Beck et al. var provmängden inte tydligt redovisad, men uppskattningsvis låg denna mellan 100 – 900 prover och i texten framgår ingenting om ett för begränsat provmaterial (2), vilket kan tolkas som ett acceptabelt underlag.

Begränsningar och felkällor

Studiens omfattning medförde begränsningar för datainsamlingen och därmed det statistiska underlaget för beräkning av specificitet samt sensitivitet för Multitest 15. Detta underlag begränsades i synnerhet för drogerna kokain samt metadon. Studiens ursprungliga målsättning - att utmana Multitestet 15s prestanda med drogkoncentrationer inom ett intervall på $\pm 50\%$ runt gränsvärdet – uppfylldes inte. För att ändå realisera ett underlag för beräkning inkluderades även låga samt höga drogkoncentrationer utanför det ursprungligt tänkta intervallet. Resultaten av dessa beräkningar ger ett mått på Multitest 15s sensitivitet samt specificitet för drogkoncentrationer generellt, under den begränsade tidsperiod då datainsamlingen skedde. För att höja nivån på validitet och reliabilitet hos en studie av detta slag bör datainsamling utföras under avsevärt längre tid eller med annat upplägg än vad detta projekt medgav.

Konelab Prime 30i använder sig av en semikvantitativ analysmetod, vilket innebär att koncentrationen är uppskattad. Detta gör att det inte går med stor noggrannhet veta vid vilka koncentrationer som Multitest 15 klarar av att detektera eftersom Konelab Prime 30i:s resultat är inte tillförlitliga vid höga och låga koncentrationer av drogerna, vilket påverkar sensitiviteten. En annan problematik är att Konelab Prime 30i används som en screeningmetod på Länssjukhuset Ryhov, Jönköping och har använts som referens till Multitest 15, vilket leder till minskad reliabilitet för resultaten. Det mest optimala utförandet hade varit att uthämta resultat för de testade proverna från en validerad metod som exempelvis LC-MC eller GC-MC eftersom dessa metoder är kvantitativa, vilket ger exakta värden i jämförelse med Konelab Prime 30i.

Alla positiva prover skulle ha skickats för verifiering för att säkerställa resultaten från Multitest 15.

Konelab Prime 30i kan inte särskilja mellan amfetamin, metamfetamin och ecstasy, vilket gör det svårt att konfirmera Multitest 15s resultat för dessa droger. Alla urinprover som blev positiva i testet skulle ha skickats för verifiering för att konfirmera resultaten. Positiva resultat kan orsakas av korsreaktioner eller andra substanser som kan ge de resultat som Multitest 15 uppvisade.

Perspektiv

Förslag till förbättring för framtida studier är att först uppskatta de mest förekommande droger som analyseras och även hur många som blir positiva. Vad gäller de mest förekommande kan dessa användas för studien, däremot för de mer ovanliga drogerna kan lösningen vara att ta kontakt med andra sjukhus/laboratorier och diskutera möjligheten att använda dessa prover för studien. Alternativt skulle spädning av drogpositiva urinprover kunna utföras i syfte att ta fram urin med önskvärda drogkoncentrationer i studien. Detta förutsätter dock att validerade metoder för spädning finns att tillgå för att erhålla ett tillförlitligt spädningsresultat. Ytterligare lösningar är att samla frysta urinprover under en längre tidsperiod för att uppnå ett statistiskt godtagbart antal, eller att fortlöpande testa dessa prover färskt om möjlighet finns.

Slutsatser

Resultatet av studien visar att sensitiviteten för Multitest 15, sammantaget för de 11 droger som testats, uppgår till mellan 86,7% och 100%. Studien visar också att specificiteten för testet uppgår till mellan 33% och 100% för samtliga droger sammanräknat. Dessa resultat kan uppfattas tyda på god sensitivitet och sämre specificitet för Multitest 15. Det är dock viktigt att beakta de faktorer som inverkar på beräkningen av resultaten, bland annat svårigheten att insamla tillräckligt antal urinprover med koncentrationer inom ett intervall kring gränsvärdet samt att finna positiva urinprover för vissa droger. Detta har gjort att provfördelningen för varje drog inte är jämn vad gäller antal prover samt medfört beslutet att inkludera drogkoncentrationer utanför intervallet på $\pm 50\%$ från gränsvärdet, vilket har påverkat specificitet och sensitivitet i så pass hög grad att det inte går att utvärdera tillförlitligheten för Multitest 15 på ett tillfredsställande sätt. Det faktum att Konelab Prime 30i använder sig av semi-kvantitativ metod med uppskattade koncentrationer på prover är ännu ett skäl till att det inte har gått att utvärdera Multitest 15 tillfredsställande. Vidare studier krävs där till exempel insamlingstiden av urinprover utökas, större provmängd insamlas och där metoder som exempelvis LC-MS eller GC-MS används som referensmetodik. Avslutningsvis kunde syftet med att utvärdera sensitivitet och specificitet för Multitest 15 inte uppnås i tillräckligt hög grad, på grund av ett alltför begränsat provmaterial vilket ledde till en missvisande statistik i studien.

Referenser

1. Hansson T, Helander A, Beck O, Elmgren A, Kugelberg FC, Kronstrand R. Enhetliga analyser av narkotika i urin krävs för rättssäkerheten. *Lakartidningen*. 2015;112(39):1671.
2. Beck O, Carlsson S, Tusic M, Olsson R, Franzen L, Hulten P. Laboratory and clinical evaluation of on-site urine drug testing. *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation*, 2014, Vol74(8), p681-686. 2014;74(8):681-6.
3. Bergman D. Drogtester i urin – enkätundersökning bland personal från LARO-mottagningar i Sverige. Examensarbete. Department of Chemistry, Umeå universitet. 2014 [läst 2019-03-09]. Tillgänglig från: <http://www.diva-portal.se/smash/get/diva2:717768/FULLTEXT01.pdf>
4. SFS 2016:488. Narkotikastrafflag (1968:64). Stockholm: Justitiedepartementet L5 [läst 2019-03-07]. Tillgängligt från: http://www.riksdagen.se/sv/dokument-lagar/dokument/svensk-forfattningssamling/narkotikastrafflag-196864_sfs-1968-64
5. Nilsson-Ehle P, Berggren Söderlund M, Theodorsson E, Becker C, Laurell C, editors. *Laurells Klinisk kemi i praktisk medicin*. 9., [rev. och utök.] uppl. Lund: Studentlitteratur; 2012. s.42, 703 - 704, 709 - 715
6. Frågor och svar om narkotika. Centralförbundet för alkohol- och narkotikaupplysning; 2018-02-08 [läst 2019-03-09]. Tillgänglig från: <https://www.can.se/Fakta/Fragor-och-Svar/Narkotika/>
7. Socialstyrelsen. Narkotikarelaterade dödsfall - en analys av 2014 års dödsfall och utveckling av den officiella statistiken. Artikelnummer: 2016-2-32. Stockholm: Socialstyrelsen; 2016 [läst 2019-03-10]. Tillgänglig från: <https://www.socialstyrelsen.se/publikationer2016/2016-8-22>
8. Socialstyrelsen. Dödsorsaksstatistik om läkemedels- och narkotikaförgiftningar. Artikelnummer: 2016-8-22. Stockholm: Socialstyrelsen; 2016 [läst 2019-03-10]. Tillgänglig från: <https://www.socialstyrelsen.se/publikationer2016/2016-8-22>
9. Rekommendation för provtagning, analytisk undersökning och svarsrapportering vid drogtestning i urin. *Equalis*, 2016-04-22 [läst 2019-03-06]. Tillgänglig från: https://www.equalis.se/media/127028/s015-provtagning-analytisk-undersokning-och-svarsrapportering-vid-drogtestning-i-urin_2-1.pdf?fbclid=IwAR23yYLSue_xSHgQvR3RHTmelTUR2YlOKmBliXeXDwZUxHfG5sQXyF3MV_g
10. Helander A, Ohlson M, Beck O, Hansson T, Kugelberg FC, Kronstrand R. Kreatininkoncentrationen i urin bör mätas vid drogtestning. Riktlinjer för beslutsgräns och tolkning behövs – inte minst för rättssäkerheten. *Lakartidningen*. 2011;108:24-25. Tillgänglig från: <http://www.lakartidningen.se/Functions/OldArticleView.aspx?articleId=16640>
11. Spens B. Kan man dela in knark i olika grupper. *Drugsmart*; 2018-04-09 [läst 2019-04-02]. Tillgänglig från: <https://www.drugsmart.com/faq/kan-man-dela-in-knark-i-olika-grupperkategorier/>

12. Franck J, Nylander I, editors. Beroendemedicin. 2., uppdaterade och omarb. uppl. Lund: Studentlitteratur; 2015. S. 175-179, 189-193, 195, 201 – 2, 327, 340
13. Bishop ML, Fody EP, Schoeff LE, editors. Clinical chemistry: techniques, principles, correlations. 6th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins; 2010. S 633-636
14. Theodorsson E, Berggren Söderlund M, Laurell C, editors. Laurells Klinisk kemi i praktisk medicin. Tionde upplagan. Lund: Studentlitteratur; 2018. S 741
15. National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Methamphetamine, CID = 10836 [läst 2019-04-23]. Tillgänglig från: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/methamphetamine>
16. National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. CID=1615 [läst 2019-04-23]. Tillgänglig från: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1615#section=Metabolism-Metabolites>
17. Läkemedel. Drugsmart; 2019 [läst 2019-04-19]. Tillgänglig från: <https://www.drugsmart.com/fakta/lakemedel/>
18. Beck O, Villén T. Drogtestning blir allt säkrare och mer heltäckande. Läkartidningen. 2011;108(45):2300-3 [läst 2019-06-08]. Tillgänglig från: <http://www.lakartidningen.se/Functions/OldArticleView.aspx?articleId=17267>
19. Ruiz P, Strain EC, Lowinson JH, editors. Lowinson and Ruiz's Substance abuse: a comprehensive textbook. 5. ed. Philadelphia, Pa.: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins; 2011. S 130
20. Moeller KE, Lee KC, Kissack JC. Urine Drug Screening: Practical Guide for Clinicians. Mayo Clinic Proceedings. 2008;83(1):66 - 76 [Läst 2019-04-23]. Tillgänglig från: [https://www.mayoclinicproceedings.org/article/S0025-6196\(11\)61120-8/fulltext..](https://www.mayoclinicproceedings.org/article/S0025-6196(11)61120-8/fulltext..)
21. Tietz NW. Textbook of Clinical Chemistry. W.B. Saunders Company. 1986, s 1735
22. Armbruster DA, Hubster EC, Kaufman MS, Ramon MK. Cloned Enzyme Donor Immunoassay (CEDIA) for Drugs-of-Abuse Screening. Clin Chem. 1995;41(1):92-98. Tillgänglig från: <http://clinchem.aaccjnls.org/content/clinchem/41/1/92.full.pdf>
23. Droganalys i blod och urin. Rättsmedicinalverket; 2018-06-04 [läst 2019-03-04]. Tillgänglig från: <https://www.rmv.se/verksamheter/rattskemi/droganalys-i-blod-och-urin/>
24. Taylor EH, Oertli EH, Wolfgang JW, Mueller E. Accuracy of Five On-Site Immunoassay Drug-of-Abuse Testing Devices. Journal of Analytical Toxicology. 1999;23(2):119-124

25. Statistiska begrepp i medicinska utvärderingar. Stockholm: Statens beredning för medicinsk och social utvärdering; 2014 [läst 2019-05-25]. Tillgänglig från: <https://www.sbu.se/sv/var-metod/> och klicka på 'Bilaga 10 – Statistiska begrepp i medicinska utvärderingar' under Syntes.
26. Attema-de Jonge ME, Peeters SYG, Franssen EJF. Performance of three point-of-care urinalysis test devices for drugs of abuse and therapeutic drugs applied in the emergency department. *Journal of Emergency Medicine*. 2012;42(6):682-691
27. Statistiska centralbyrån. Urval – från teori till praktik. Handbok 2008:1, s 17, 111. [läst 2019-05-26]. Tillgänglig från: https://www.scb.se/statistik/publikationer/OV9999_2007A01_BR_X99BR0801.pdf