

# Houdbaarheid van urinemonsters bestemd voor drugsscreening

D. Mitrović <sup>a\*</sup>, A.G.M. de Jong <sup>b</sup>, L. de Boer-van Gorp <sup>b</sup>,  
M. Duisenberg-van Essenberg <sup>c</sup>, L. van Hout <sup>c</sup> en M.A. ter Laak <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Ziekenhuisapotheeker in opleiding, Ziekenhuisapotheek Midden-Brabant, Tilburg.

<sup>b</sup> Klinisch-farmacologisch analist, Ziekenhuisapotheek Midden-Brabant, Tilburg.

<sup>c</sup> Ziekenhuisapotheeker, Ziekenhuisapotheek Midden-Brabant, Tilburg.

\* Correspondentie: dmitrovic@tsz.nl.

## KERNPUNTEN

- Urinemonsters met amfetaminen, benzodiazepinen, cocaïne, opiaten, cannabis, methadon en creatinine zijn twee weken houdbaar bij 15-25°C en 2-8°C en vijf weken bij -20°C en -80°C
- Urinemonsters met cocaïne, opiaten en cannabis zijn maximaal twee dagen houdbaar bij 37°C; monsters met amfetaminen, benzodiazepinen, methadon en creatinine twee weken.
- Om temperaturen boven 25°C te voorkomen of te onderkennen wordt aanbevolen urinemonsters voor bepaling van *drugs of abuse* te vervoeren in koelboxen en tijdens het vervoer de temperatuur te registreren.

## Inleiding

In het laboratorium van de Ziekenhuisapotheek Midden-Brabant worden urinemonsters voor onderzoek op *drugs of abuse*, afkomstig van onder andere verslavingsklinieken, geanalyseerd met immunoassays. De urinecontroles zoals ze door het laboratorium worden uitgevoerd, bestaan uit een screening op de aanwezigheid van amfetaminen (inclusief XTC-achtigen), benzodiazepinen, cannabis (tetrahydrocannabinol, THC), cocaïne, 2-ethylideen-1,5-dimethyl-3,3-difenylpyrrolidine (EDDP, een metabooliet van methadon) en opiaten. Ten behoeve van de interpretatie van cannabisuitslagen wordt tevens de verhouding creatinine/cannabis bepaald [1]. Daarnaast kan op verzoek van de klant een bevestigingsonderzoek met gaschromatografie-massaspectrometrie uitgevoerd worden op gescreende urine.

Van het moment van afname tot de ontvangst bij het laboratorium worden de urinemonsters gedurende een onbekende tijd bij een onbekende temperatuur bewaard. Na ontvangst worden de urinemonsters dezelfde dag geanalyseerd. Bij ontvangst in het weekend worden de urinemonsters opgeslagen bij -20°C tot analyse op de eerstvolgende werkdag. Gedurende de voorbereiding en de analyse van het monster is de omgevingstemperatuur tussen 15°C en 25°C. Na de analyse worden monsters met een negatieve uitslag gedurende een week bij -20°C bewaard en monsters met een positieve uitslag gedurende minimaal een maand bij -80°C.

## ABSTRACT

*Stability of urine samples for drugs of abuse testing*

### OBJECTIVE

To investigate the influence of different storage temperatures on the stability of urine samples for drugs of abuse testing.

### DESIGN AND METHODS

Stability of amphetamines, benzodiazepines, cocaine, morphine, cannabis, methadone and creatinine in urine samples was investigated. Pooled urine samples were stored at -80°C, -20°C, 2-8°C, 15-25°C and 37°C for two to five weeks. Immunoassays were performed with intervals of two to seven days.

### RESULTS

All drugs of abuse and creatinine proved to be stable for 35 days at -80°C and -20°C and for 14 days at 2-8°C and 15-25°C. At 37°C, amphetamines, benzodiazepines, methadone and creatinine were stable for 14 days, whereas cocaine, morphine and cannabis were stable for not more than two days at 37°C.

### CONCLUSION

If in practice analysts have to deal with urine samples which are transported to the laboratory under unknown conditions or temperatures over 25°C, they need to take into account that the concentrations of cocaine, morphine and cannabis have decreased to such an extent that they could be below the detection limit of an immunoassay. If there is evidence that during transport the temperature was indeed over 25°C, the urine samples should not be analysed. In order to prevent the temperature to rise above 25°C, we recommend urine samples be transported in cool boxes and temperature be monitored during the transport.

*Mitrović D, de Jong AGM, de Boer-van Gorp L, Duisenberg-van Essenberg M, van Hout L, ter Laak MA. Houdbaarheid van urinemonsters bestemd voor drugsscreening. PW Wetenschappelijk Platform. 2012;6:a1212.*

In dit onderzoek is de invloed onderzocht van verschillende bewaartemperaturen op de houdbaarheid van urinemonsters die zijn bedoeld voor drugsscreening.

## Methoden

Urinemonsters uit de praktijk zijn bewaard bij vijf verschillende temperaturen. Er is niet gewerkt met gespikete urinemonsters, aangezien veel van de metaboolieten niet als grondstof te koop zijn. Er is in dit onderzoek bewust niet met afkapwaarden gewerkt, daar het gaat om een globaal beeld van dalingen in het gehalte van verschillende drugs.

**TABEL 1**  
Gemeten pH-waarden en soortelijke gewichten

Monster	pH □	Soortelijk gewicht (g/L) ◇
Amfetaminen	6,43	1,022
Benzodiazepinen	6,62	1,018
Cocaïne	6,91	1,017
Opiaten	6,97	1,023
Cannabis	6,63	1,009
Methadon	5,46	1,012
Creatinine	7,14	1,021

□ Referentie: 5-7

◇ Referentie: 1,005-1,030

De urinemonsters werden minimaal twee weken bewaard bij 2-8°C, 15-25°C en 37°C en minimaal vijf weken bij -20°C en -80°C. De hoogste bewaartemperatuur (37°C) kan voorkomen tijdens het transport bij warm weer of bij het bewaren van het monster in de zon. Binnen de genoemde periodes zijn de concentraties van de urinemonsters bepaald met tussenperiodes van minimaal twee en maximaal zeven dagen.

Gezien het aantal bepalingen dat per bewaartemperatuur nodig was, was één positief urinemonster van 7 mL (10 mL totaal, 3 mL voor bevestigingsonderzoek) onvoldoende. Om deze reden werd een minimale hoeveelheid van 50 mL van positieve monsters verzameld (pooling). De verzamelde positieve urinemonsters werden tot aan de start van het onderzoek bij -80°C bewaard. Het exacte tijdsverloop tussen afname en analyse is onbekend, gezien de pooling van verschillende monsters.

Van elke pool positieve urinemonsters werden de pH en het soortelijk gewicht bepaald, waarna de pool verdeeld werd in Eppendorfcupjes. De pH is bepaald om externe toevoegingen aan urine die chemische storing van de screening of destructie van de drug kunnen veroorzaken, uit te sluiten. Het soortelijk gewicht van urine is bepaald om verdunning van de urinemonsters uit te sluiten. Van elk drug zijn per bewaartemperatuur vijf Eppendorfcupjes van 1 mL uitgevuld en geanalyseerd. Alle urinemonsters zijn voor analyse omgeschud en 10 minuten gecentrifugeerd. Voor de analyse is gebruikgemaakt van Ilab 600 (immunoassay) met de bepalingsgrenzen zoals aangeven bij de figuren 1-7.

**Resultaten en beschouwing**

De bepalingen van de pH en het soortelijk gewicht zijn weergegeven in tabel 1, met de gehanteerde referentiewaarden.

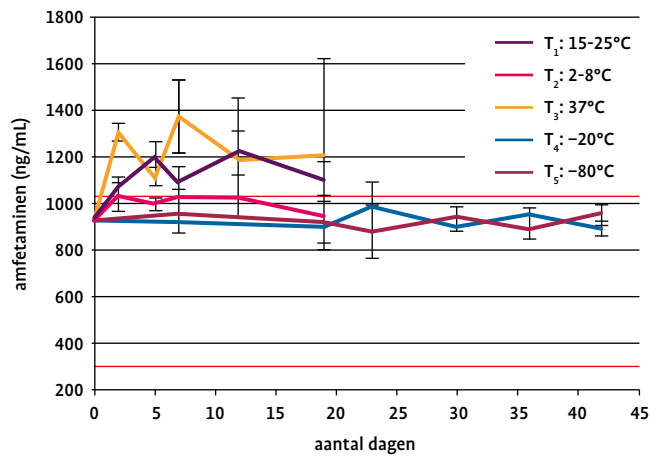
**Amfetaminen**

Bij geen van de onderzochte temperaturen was een achteruitgang van de concentratie van amfetaminen te zien (figuur 1).

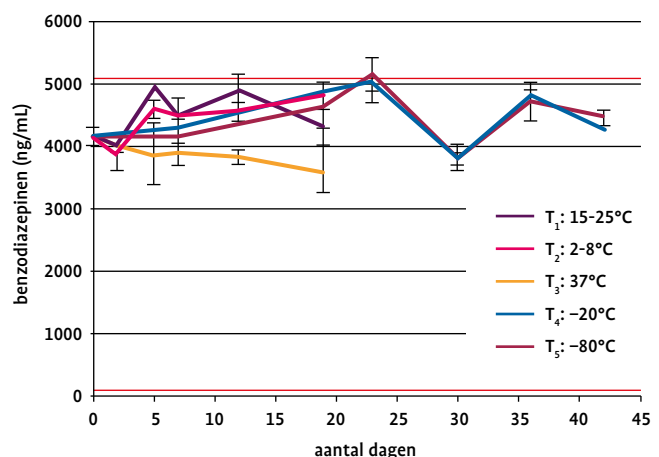
Een vergelijkbaar onderzoek van Jimenez e.a. naar houdbaarheid van urinemonsters amfetamine toonde dat deze monsters bij -20°C en bij 4°C tot 24 maanden houdbaar waren en bij 37°C tot 7 dagen [2].

Bij 37°C en bij kamertemperatuur (15-25°C) trad een grote variatie

**FIGUUR 1**  
Concentratieverloop van amfetamine in urinemonsters



**FIGUUR 2**  
Concentratieverloop van benzodiazepinen in urinemonsters



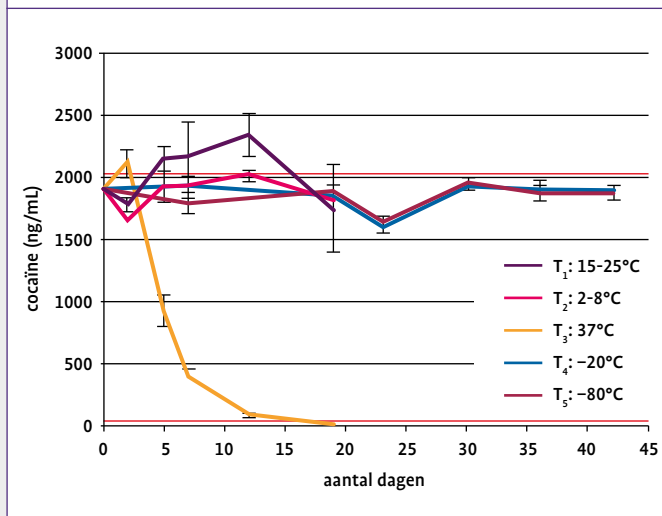
op in de gemeten concentraties en de spreiding binnen de metingen was groot. Dit kan verklaard worden doordat de gemeten concentraties zich boven de bepalingsgrenzen (300-1000 ng/mL) bevinden. Toch vinden we deze gegevens bruikbaar, gezien het doel om grote dalingen in het gehalte op te sporen.

**Benzodiazepinen**

Het gemiddeld gehalte van benzodiazepinen op dag 0 was 4149 (± 148) ng/mL. Bij de bewaartemperatuur van 37°C werd na 19 dagen een gemiddeld gehalte van 3616 (± 355) ng/mL gemeten; een achteruitgang van gemiddeld 13%. Bij overige bewaartemperaturen is geen significante achteruitgang in de concentratie gemeten (figuur 2).

In een eerder onderzoek van Zaitsu e.a. is aangetoond dat nitrazepam bij 25°C na 14 dagen volledig uit het urinemonster is

**FIGUUR 3**  
Concentratieverloop van cocaïne in urinemonsters



verdwenen [3]. Een mogelijke verklaring ligt in het feit dat alle nitrobenzodiazepinen door bacteriën omgezet worden in 7-amino-metabolieten. Het remmen van de groei van deze bacteriën, door toevoeging van een groeiremmende stof of bewaring bij 4°C, remde de afbraak van nitrazepam. Bij een temperatuur van 37°C vindt er dus bacteriegroei plaats waarbij nitrobenzodiazepinen worden omgezet in niet-meetbare 7-amino-metabolieten. Behalve 7-amino-clonazepam werden geen andere 7-amino-metabolieten met de llab600 bepaald.

Aangezien naast nitrobenzodiazepinen ook een groot aantal niet-nitro-benzodiazepinen worden bepaald, draagt de daling van de concentratie nitrobenzodiazepinen voor een klein gedeelte bij aan de daling van de totale concentratie benzodiazepinen, in dit geval 13%.

### Cocaïne

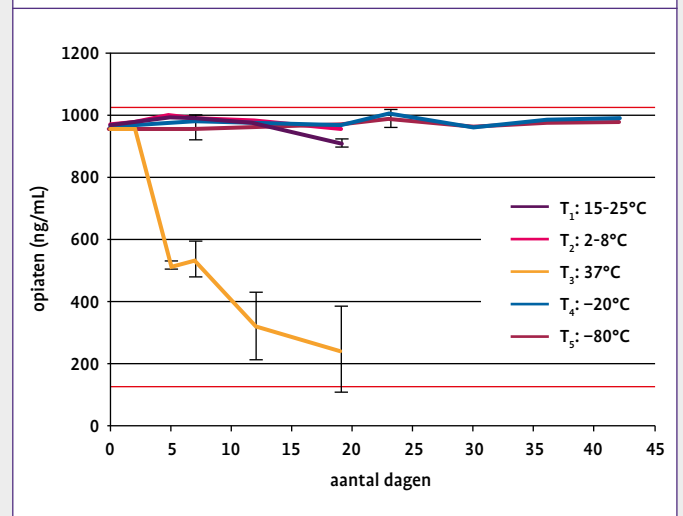
Het gemiddeld gehalte cocaïne op dag 0 was 1905 ( $\pm$  41) ng/mL. Urinemonsters die bewaard zijn bij 37°C, vertoonden na vijf dagen een achteruitgang in de concentratie van 52% (919  $\pm$  123 ng/mL). Op dag 19 is de concentratie onder de detectielimiet gedaald. Bij de andere temperaturen is geen daling van de concentratie waarneembaar (figuur 3).

Met immunoassays wordt in werkelijkheid de hoeveelheid van de cocaïnemetaboliet benzoylecgonine bepaald. Het is dus benzoylecgonine dat bij 37°C verantwoordelijk is voor de gehaltesdaling. Er zijn in de literatuur geen gegevens beschikbaar over mogelijke oorzaken van de daling van de hoeveelheid benzoylecgonine in urine. Te denken valt aan een lagere stabiliteit door stijging van de pH, invloed van licht of absorptie aan buisoppervlak [4].

### Opiaten

Het gemiddeld gehalte van opiaten op dag 0 was 955 ( $\pm$  5) ng/mL. Urinemonsters die bewaard zijn bij 37°C, vertoonden na vijf dagen 54% achteruitgang in de concentraties (519  $\pm$  9 ng/mL). Op dag 19 was de concentratie met 75% gedaald (247  $\pm$  139 ng/mL). Bij de

**FIGUUR 4**  
Concentratieverloop van opiaten in urinemonsters



andere temperaturen was geen daling van de concentratie te zien (figuur 4).

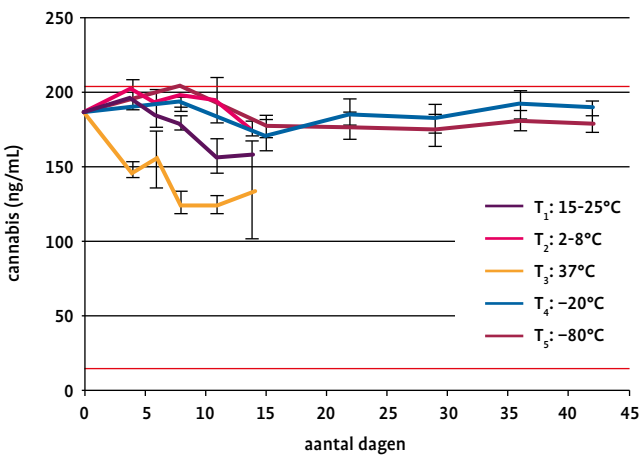
De stabiliteit van opiaten wordt in grote mate beïnvloed door de bewaartemperatuur en in mindere mate door de pH van de urinemonsters [5]. In dit onderzoek begon de concentratie na 48 uur snel te dalen. De hogere bewaartemperatuur zorgt voor een snellere groei van de aanwezige bacteriën. Uit een onderzoek van Cook e.a. blijkt dat deze bacteriën het aanwezige ureum afbreken tot onder andere ammoniak, waardoor de pH van de urine stijgt [6]. Deze stijging van de pH zorgt voor een versnelde afbraak (hydrolyse) van morfine en zijn geconjugeerde vormen [6]. Uit eerder onderzoek is gebleken dat de afname van het gehalte opiaten zich na pas 3-10 dagen manifesteert [6]. Zaitsu e.a. hebben aangetoond dat als de urinemonsters voor het bewaren door een steriele filter gehaald worden, er minder afbraak van opiaten plaatsvindt bij 25°C [3]. Een eigen onderzoek naar aanwezigheid van bacteriën in de urinemonsters leverde een positieve kweek van 2000 kolonievormende coagulase-negatieve stafylokokken per liter. In dit onderzoek is de pH alleen vooraf gemeten en niet achteraf, in verband met een te klein meetvolume in de Eppendorf-cupjes.

### Cannabis

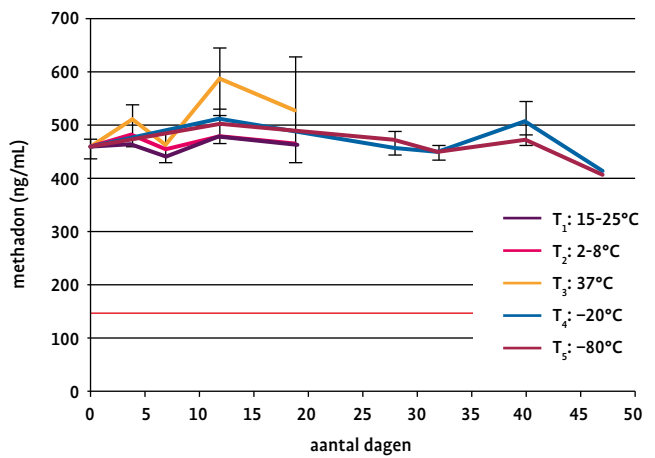
Het gehalte van cannabis op dag 0 was 185 ng/mL in alle monsters. Na 14 dagen bij 37°C was de concentratie met 28% gedaald (134  $\pm$  33 ng/mL) en bij 15-25°C met 15% (158  $\pm$  9 ng/mL). Alle overige urinemonsters vertoonden geen achteruitgang in de concentratie gedurende de meetperiode (figuur 5).

De daling van de concentratie van cannabismetabolieten en hun conjugaten bij 15-25°C en bij 37°C wordt volgens Skopp en Pötsch enerzijds veroorzaakt door bacterie- of schimmelgroei en anderzijds door stijging van de pH [7]. De bacteriën en schimmels kunnen de *n*-pentyl-zijketen van cannabinoïden afbreken tot carbonzuur- en hydroxyzuur-zijketens. Bij een hogere pH worden cannabinoïden gevoeliger voor de decarboxylering van het

**FIGUUR 5**  
Concentratieverloop van cannabis in urinemonsters



**FIGUUR 6**  
Concentratieverloop van methadon in urinemonsters



molecuul [7]. In het onderzoek van Skopp en Pötsch daalde de totale concentratie van vrij en geconjugeerd THC-COOH bij 20°C met 35% na 15 dagen.

**Methadon**

Bij geen van de onderzochte temperaturen was een relevante achteruitgang van de methadonconcentratie te zien (figuur 6). Over de stabiliteit van methadon in urinemonsters is in de literatuur weinig informatie te vinden. Uit onderzoek van Moody e.a. bleken methadon en zijn metabolieten 600 dagen stabiel te zijn bij -20°C [8].

**Creatinine**

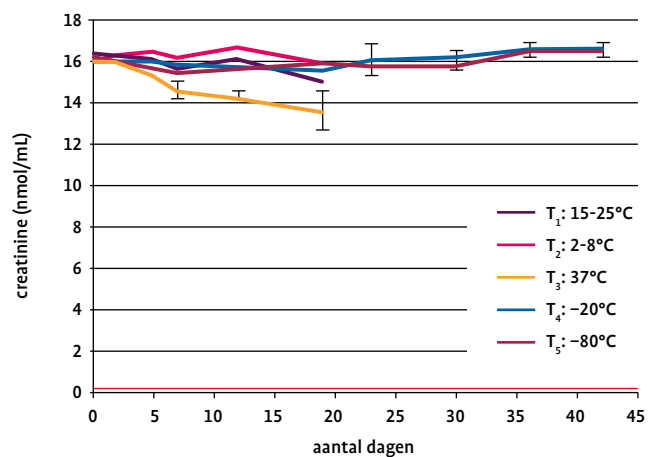
Bij de creatinine bevattende urinemonsters lag de pH van 7,14 buiten de referentiewaarden (tabel 1). De richtlijnen van de Substance Abuse and Mental Health Service Administration (SAMHSA) voor de pH van urine zijn ruimer gesteld, namelijk tussen 3 en 11 [9]. Aangezien ons referentiegebied voor de pH zeer smal is gekozen, is besloten deze monsters niet af te keuren. Het gehalte op dag 0 was 16 nmol/mL in alle monsters. Na 19 dagen is bij 37°C een achteruitgang van 13% (14 ± 0,9 nmol/mL) in de concentratie van creatinine te zien. Bij de andere temperaturen was geen relevante achteruitgang in de concentratie waarneembaar (figuur 7).

In een onderzoek van Spierto e.a. vertoonde creatinine een daling van gemiddeld 15% na 10 dagen bij 37°C [10]. Bij 4°C en bij 25°C bleef de creatinineconcentratie gedurende 30 dagen ongewijzigd en bij 55°C ging de achteruitgang in de concentratie sneller dan bij 37°C. Als mogelijke oorzaken voor de achteruitgang in de concentratie werden temperatuur en bacteriële contaminatie genoemd. De resultaten uit deze studie komen overeen met de door ons gevonden resultaten.

**Conclusie en aanbevelingen**

Uit dit onderzoek is gebleken dat alle onderzochte drugs bij -80°C

**FIGUUR 7**  
Concentratieverloop van creatinine in urinemonsters



en bij -20°C 35 dagen stabiel blijven en bij 2-8°C en 15-25°C 14 dagen. Bij 37°C blijven amfetaminen, benzodiazepinen, methadon en creatinine gedurende 14 dagen ook stabiel. Bij dezelfde bewaartemperatuur van 37°C vertonen cocaïne, opiaten en cannabis, na dag 2, een snelle achteruitgang in het gehalte (tabel 2). Indien analisten te maken krijgen met urinemonsters die langer dan twee dagen onder onbekende omstandigheden of bij temperaturen boven 25°C, onderweg geweest zijn naar het laboratorium, dienen zij rekening te houden met het feit dat de gehalten van cocaïne, opiaten en cannabis zodanig gedaald kunnen zijn dat er geen detectie door middel van een immunoassay meer mogelijk is. Als blijkt dat de temperatuur tijdens het transport langer dan twee dagen boven 25°C is geweest, is het advies om het urinemonster niet te analyseren. In het algemeen is van te voren niet bekend

TABEL 2

Maximaal aantal dagen waarin geen significante achteruitgang in het gehalte van een drug is gevonden

	-80°C	-20°C	2-8°C	15-25°C	37°C
Amfetaminen	35	35	14	14	14
Benzodiazepinen	35	35	14	14	14
Cocaïne	35	35	14	14	2
Opiaten	35	35	14	14	2
Cannabis	35	35	14	14	2
Methadon	35	35	14	14	14
Creatinine	35	35	14	14	14

welke drugs aanwezig zijn in het te onderzoeken urinemonster. Dit maakt dat een maximale houdbaarheid van twee dagen van toepassing is voor alle urinemonsters.

Om temperaturen boven 25°C te voorkomen of te onderkennen wordt aanbevolen urinemonsters voor bepaling van drugs te vervoeren in koelboxen en een vorm van temperatuurregistratie tijdens het vervoer te introduceren.

LITERATUUR

- 1 Arts J, Mulder H, van Roon E, et al. Uniforme rapportage reduceert foute interpretaties. Creatininebepaling belangrijk bij urinetest op cannabisgebruik. *Pharm Weekbl.* 2003;138(47):1650-4.
- 2 Jiménez C, de la Torre R, Ventura M, et al. Stability studies of amphetamine and ephedrine derivatives in urine. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2006;843(1):84-93.
- 3 Zaitso K, Miki A, Katagi M, Tsuchihashi H. Long-term stability of various drugs and metabolites in urine, and preventive measures against their decomposition with special attention to filtration sterilization. *Forensic Sci Int.* 2008;174(2-3):189-96.
- 4 Hippenstiel MJ, Gerson B. Optimization of storage conditions for cocaine and benzoylecgonine in urine: a review. *J Anal Toxicol.* 1994;18(2):104-9.
- 5 Chang BL, Huang MK, Tsai YY. Total morphine stability in urine specimens stored under various conditions. *J Anal Toxicol.* 2000;24(6):442-7.
- 6 Cook JD, Strauss KA, Caplan YH, et al. Urine pH: the effects of time and temperature after collection. *J Anal Toxicol.* 2007;31(8):486-96.
- 7 Skopp G, Pötsch L. An investigation of the stability of free and glucuronidated 11-nor-delta9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid in authentic urine samples. *J Anal Toxicol.* 2004;28(1):35-40.
- 8 Moody DE, Monti KM, Spanbauer AC. Long-term stability of abused drugs and antiabuse chemotherapeutic agents stored at -20 degrees C. *J Anal Toxicol.* 1999;23(6):535-40.
- 9 Urine specimen validity testing: evaluation of the scientific data used to define a urine specimen as substituted. Rockville: Substance Abuse and Mental Health Service Administration; 2010. [www.workplace.samhsa.gov/ResourceCenter/r381.html](http://www.workplace.samhsa.gov/ResourceCenter/r381.html). Geraadpleegd 2011 november 24.
- 10 Spierio FW, Hannon WH, Gunter EW, Smith SJ. Stability of urine creatinine. *Clin Chim Acta.* 1997;264(2):227-32.

## Medicatiereview aanbevolen bij geautomatiseerd distributiesysteem

Adrienne Faber

In een pragmatisch gerandomiseerd gecontroleerd onderzoek keken Kwint e.a. naar het effect van medicatiereview op het aantal geneesmiddelgerelateerde problemen (DRP's) bij oudere patiënten met medicatie uit een geautomatiseerd distributiesysteem (GDS), zoals de medicatierol of baxterrol. Hiervoor werden via zes apotheken thuiswonende patiënten benaderd van 65 jaar of ouder die vijf of meer geneesmiddelen gebruikten afkomstig uit een GDS. Patiënten werden *at random* toegewezen aan de interventiegroep, waarbij direct een medicatiereview plaatsvond, of aan de wachtlijst-controlegroep, waarbij na zes maanden een medicatiereview plaatsvond. Twee onafhankelijke onderzoeksapothekers beoordeelden de geanonimiseerde medicatieprofielen van de patiënten. De apotheker van de patiënt ontving een schriftelijke terugkoppeling met de geconstateerde potentiële DRP's en bijbehorende adviezen en besprak deze met de huisarts. Na zes maanden werd aan de hand van de medicatiehistorie nagegaan of adviezen om de medicatie te wijzigen waren opgevolgd. De interventiegroep omvatte 63 patiënten, de wachtlijstgroep 55 patiënten. De onderzoeksapothekers constateerden bij aanvang

gemiddeld 8,5 DRP's per patiënt in beide groepen. Bij gemiddeld 4,5 DRP's per patiënt werd een medicatiewijziging geadviseerd. Zes maanden na de medicatiereview was het aantal DRP's met een advies voor een medicatiewijziging in de interventiegroep met 29% gedaald, in vergelijking met 5% in de wachtlijstgroep ( $P < 0,01$ ). Het advies om een geneesmiddel te stoppen werd vaker opgevolgd dan het advies om een geneesmiddel te starten (82% versus 44%,  $P = 0,01$ ). Het onderzoek laat zien dat medicatiereviews het aantal GRP's kunnen terugdringen bij oudere patiënten met GDS-medicatie. De auteurs adviseren dat bij alle patiënten die hun medicatie uitgezet krijgen in een GDS, apotheker en huisarts een medicatiereview zouden moeten uitvoeren.

Kwint HF, Faber A, Gussekloo J, Bouvy ML. Effects of medication review on drug-related problems in patients using automated drug-dispensing systems: a pragmatic randomized controlled study. *Drugs Aging.* 2011;28(4):305-14.

Faber A. *Medicatiereview aanbevolen bij geautomatiseerd distributiesysteem.* *PW Wetenschappelijk Platform.* 2012;6:e1201.