

Betrouwbaarheid van twee testen voor gammahydroxyboterzuur; prospectief onderzoek naar de DrugCheck GHB Single Test en Viva-E GHB immunoassay

T.A. Smits^{a*}, F.M.J. Gresnigt^b, B.D. van Groen^c,
E.J.F. Franssen^a en M.E. Attema-de Jonge^d

^a Ziekenhuisapotheek, OLVG, Amsterdam.

^b Afdeling Spoedeisende Hulp, OLVG, Amsterdam.

^c Intensive Care en Afdeling Kinderchirurgie, Erasmus Medisch Centrum - Sophia Kinderziekenhuis, Rotterdam.

^d Ziekenhuisapotheek, Meander Medisch Centrum, Amersfoort.

* Correspondentie: T.A.Smits@olvg.nl.

Geen belangenverstrengeling gemeld.

Gebaseerd op het registratieonderzoek van T.A. Smits.

Dit artikel gebaseerd op: Smits TA, Gresnigt FMJ, van Groen BD, Franssen EJF, Attema-de Jonge ME. Prospective investigation of the performance of 2 gamma-hydroxybutyric acid tests: DrugCheck GHB Single Test and Viva-E GHB immunoassay. *Ther Drug Monit.* 2020;42(1):139-145.

Citeer als: Smits TA, Gresnigt FMJ, van Groen BD, Franssen EJF, Attema-de Jonge ME. Betrouwbaarheid van twee testen voor gammahydroxyboterzuur; prospectief onderzoek naar de DrugCheck GHB Single Test en Viva-E GHB immunoassay. *Nederlands Platform voor Farmaceutisch Onderzoek.* 2020;5:a1720.

KERNPUNTEN

- De DrugCheck GHB *on-site* test is niet geschikt voor gebruik op de spoedeisende hulp.
- De Viva-E GHB immunoassay is een potentieel alternatief, met een afkapwaarde van 50 mg/L en exclusie bij serumethanolconcentraties ≥ 2 g/L.
- Het is van belang om nieuwe testen en analysemethoden te valideren voor ingebruikname.
- De sensitiviteit van de arts om een diagnose 'GHB-intoxicatie' te stellen zonder hulp van een diagnostische test is 66%; een snelle GHB-test kan bijdragen aan de juiste diagnose.

INLEIDING

Gammahydroxyboterzuur (GHB) is een centraaldempend middel dat onder andere in de partyscene wordt gebruikt. Een kleine overdosering kan leiden tot duizeligheid, slaperigheid, een verminderde Glasgow Coma Scale (GCS), hypothermie en zelfs coma met respiratoire depressie [1-4].

Tot op heden blijft het lastig om een snelle bevestiging in urine van een GHB-intoxicatie te krijgen. In sommige

ABSTRACT

Prospective investigation of the performance of 2 gamma-hydroxybutyric acid tests: DrugCheck GHB Single Test and Viva-E GHB immunoassay

Objective and design

Since results are quickly available, a point-of-care test for GHB in urine can be of great diagnostic value. The objective of this prospective study was to determine the performance of the new DrugCheck GHB Single Test and the Viva-E GHB immunoassay for urine samples from emergency department patients.

Methods

Patients presented to the emergency department of OLVG hospital in Amsterdam with a Glasgow Coma Scale < 15 and a potential intoxication with drugs of abuse were included. Urine of these patients was tested for presence of GHB using the DrugCheck GHB Single Test and the Viva-E GHB immunoassay (cutoff for a positive result: 10 or 50 mg/L GHB). Results were compared for agreement with a validated gas chromatography method. Possible cross-reactivity with ethanol was investigated by analyzing ethanol concentrations in patients' urine and serum. Furthermore, the diagnostic performance of emergency medicine physicians for possible GHB-intoxicated patients was assessed.

Results

A total of 375 patients were prospectively included. The specificity and sensitivity of the DrugCheck GHB Single Test were 90% and 73%, respectively. Results improved using a cutoff value of 50 mg/L to a specificity of 97% and a sensitivity of 75%. Serum and urine ethanol levels in the false positive group were significantly higher compared to the true negative group ($P < 0.05$). Using the Viva-E GHB immunoassay the specificity was 99% and the sensitivity was 94% (cutoff value 50 mg/L and excluding samples with ethanol levels ≥ 2 g/L). The specificity and sensitivity of the physicians were 93% and 66%, respectively.

Conclusion

The DrugCheck GHB Single Test shows a sufficient specificity of $> 90\%$, but a poor sensitivity and is therefore not suitable for use in clinical practice. In contrast, the Viva-E GHB immunoassay showed acceptable results when using a cutoff value of 50 mg/L in case samples with ethanol levels ≥ 2 g/L were excluded.

ziekenhuizen is een tijdrovende gaschromatografiemethode beschikbaar om GHB te kwantificeren in urine en serum. Door de korte halfwaardetijd van GHB – 20 tot 40 minuten [5-9] – is een diagnostische test alleen van meerwaarde als de resultaten snel bekend zijn. In de afgelopen jaren zijn snelle enzymatische methoden beschikbaar gekomen om GHB te kunnen meten. De betrouwbaarheid van deze enzymatische testen is niet optimaal in vergelijking met chromatografische methoden. Dit kan verklaard worden door de kleine niet-specifieke structuurformule van GHB waardoor kruisreactiviteit kan optreden met bijvoorbeeld ethanol [10-13]. Het doel van deze prospectieve observationele cohortstudie is de betrouwbaarheid van de nieuwe *on-site* DrugCheck GHB Single Test en de Viva-E GHB immunoassay in urinemonsters van patiënten op de spoedeisende hulp (SEH) te onderzoeken.

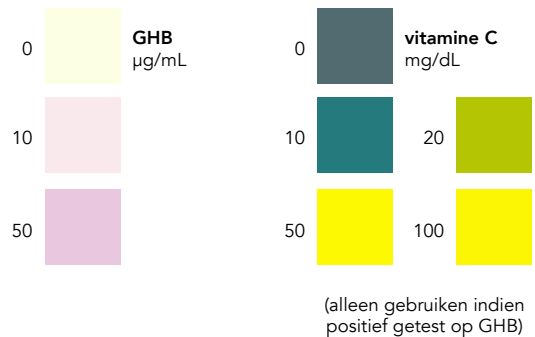
METHODEN

Tussen juni 2016 en oktober 2017 werden patiënten met een GCS < 15 op de SEH van het OLVG in Amsterdam geïncludeerd, waarbij differentiaaldiagnostisch aan een potentiële intoxicatie met drugs werd gedacht. Urine- en bloedmonsters werden conform routine zorg bij geïntoxiceerde patiënten afgenomen. Alle metingen voor deze studie zijn uitgevoerd door analisten in het laboratorium van de ziekenhuisapotheek in spijtmateriaal dat beschikbaar was na de reguliere zorg. De medisch ethische toetsingscommissie beschouwde deze studie als niet-WMO-plichtig.

De *on-site* DrugCheck GHB Single Test (Express Diagnostics, USA), verder genoemd ‘GHB *on-site* test’, werd gebruikt om de urinemonsters te analyseren. Deze *dipstick* kleurt paars indien GHB in de urine aanwezig is [14,15]. De resultaten werden gestratificeerd in twee groepen (figuur 1; [11-13]): negatief/endogeen (kleurloos, 0-10 mg/L) en positief/exogeen (lichtpaars, 10-50 mg/L en donkerpaars, > 50 mg/L). Bij de GHB *on-site* test wordt een extra *dipstick* meegeleverd om vitamine C te meten na een positieve GHB *on-site* test, omdat dit de GHB-test zou kunnen verstoren. Wanneer de vitamine C-uitslag positief was (≥ 10 mg/dL), werden deze monsters geëxcludeerd voor analyse.

In het geval dat de GHB *on-site* test niet betrouwbaar zou blijken, werd een alternatieve snelle methode voor in het

FIGUUR 1 KLEURENLEGENDA VOOR GHB EN VITAMINE C IN URINE VAN DE GHB ON-SITE TEST



laboratorium onderzocht: Viva-E System (Siemens Healthineers, Nederland) met een enzymatische GHB-assaykit van Bühlmann Laboratories AG (Zwitserland) [16].

Resultaten van de GHB *on-site* test en de Viva-E GHB immunoassay werden vergeleken met de gouden standaard: een gevalideerde gaschromatografiemethode (GC-FID) door de specificiteit en de sensitiviteit van beide testen te bepalen [11]. Om de mogelijke kruisreactiviteit met ethanol te onderzoeken werden ethanolconcentraties gemeten in urine en serum. De specificiteit en sensitiviteit werden ook berekend na exclusie van patiënten met een serumethanolconcentratie van ≥ 2 g/L. Deze ethanolconcentratie werd gekozen, omdat van deze concentraties bekend is dat ze gemeten GHB-concentraties kunnen verhogen [16]. Daarnaast werd de initiële werkdiagnose – wel of geen GHB-intoxicatie – door de arts op de SEH bij deze patiënten vergeleken met de gouden standaard.

De primaire uitkomstmaten waren de specificiteit en de sensitiviteit van de testen (eis > 90%). Deze werden berekend bij de reguliere afkapwaarde van 10 mg/L, maar ook bij de afkapwaarde van 50 mg/L. In het OLVG is gebleken dat klinisch relevante GHB-intoxicaties in de praktijk vaak spiegels > 50 mg/L laten zien. De specificiteit en sensitiviteit werden bij deze afkapwaarde eveneens berekend met en zonder exclusie van patiënten

met een serumethanolconcentratie van ≥ 2 g/L. Er werd berekend dat 94 patiënten met een positieve en 94 patiënten met een negatieve GHB-test nodig waren om de betrouwbaarheid van de testen te kunnen onderzoeken (PASS 14, USA). Secundaire uitkomsten omvatten het verschil in ethanolspiegels tussen de terecht negatieve groep en de foutpositieve groep en de specificiteit en sensitiviteit van artsen in het diagnosticeren van een GHB-intoxicatie. IBM SPSS Statistics (version 22, USA) werd gebruikt voor de statistische analyse. De Mann-Whitneytoets werd gebruikt bij niet-normaal verdeelde continue data. P-waardes $< 0,05$ werden als statistisch significant beschouwd.

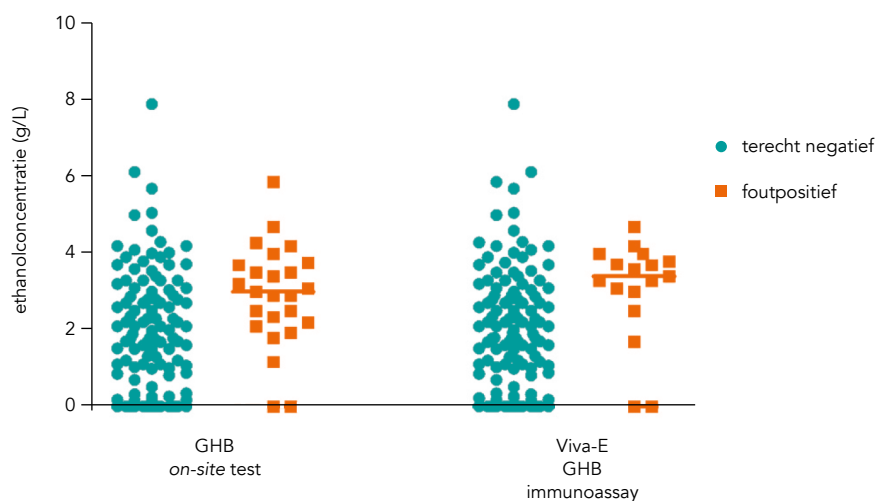
RESULTATEN

Er werden 375 patiënten geïncludeerd, waarvan 103 patiënten positief testte voor GHB in urine (gouden standaard, afkapwaarde 10 mg/L). Patiëntkarakteristieken zijn weergegeven in tabel 1. Urine van de 375 patiënten werd onderzocht op de aanwezigheid van GHB. Met behulp van de GHB *on-site* test werden 121 positieve monsters en 254 negatieve monsters gemeten. Van de positieve monsters waren 44 monsters eveneens posi-

tief voor vitamine C, deze monsters werden geëxcludeerd. Van deze 44 patiënten, testten 33 positief en 11 negatief voor GHB (gouden standaard). De resultaten van de resterende 331 patiënten werden gebruikt om de specificiteit en sensitiviteit te berekenen (tabel 2 en 3). Daarnaast werden de resultaten verkregen met behulp van de Viva-E GHB immunoassay vergeleken met de gouden standaard (tabel 3).

De kruisreactiviteit van ethanol met de GHB *on-site* test en de Viva-E GHB immunoassay werd onderzocht in alle monsters. Ethanolconcentraties in urine van de terecht negatieve groep en de foutpositieve groep zijn weergegeven in figuur 2 (afkapwaarde 10 mg/L). Ethanolconcentraties waren significant hoger in de foutpositieve groep in vergelijking met de terecht negatieve groep ($P < 0,05$). Vanwege mogelijke kruisreactiviteit met ethanol werden de specificiteit en sensitiviteit ook berekend bij een afkapwaarde van 50 mg/L, waarbij patiënten met een serumethanolconcentratie van 2 g/L en hoger werden geëxcludeerd. Dit resulteerde in een betere specificiteit en vergelijkbare sensitiviteit van de GHB *on-site* test. De specificiteit en de sensitiviteit van de Viva-E GHB immunoassay waren onder deze voorwaarden respectievelijk 99% en 94% (tabel 3).

FIGUUR 2 ETHANOLCONCENTRATIES IN URINE *



* Bij een GHB-afkapwaarde van 10 mg/L.

TABEL 1 PATIËNTKARAKTERISTIEKEN

Karakteristiek	GHB-positief (n = 103)	GHB-negatief (n = 272)
Leeftijd, mediaan (IQR25-75)	34 (28-39)	34 (23-47)
Man, aantal (%)	84 (81,6%)	180 (66,2%)
Woonachtig in, aantal (%): • Nederland • Europa (overig) • buiten Europa/onbekend	<ul style="list-style-type: none"> • 94 (91%) • 4 (4%) • 5 (5%) 	<ul style="list-style-type: none"> • 194 (71%) • 56 (21%) • 22 (8%)
GCS, mediaan (IQR25-75)	3 (3-8)	10 (3-14)

IQR: interkwartielafstand, GCS: Glasgow Coma Scale.

TABEL 2 OVEREENKOMST TUSSEN DE GHB ON-SITE TEST EN DE GOUDEN STANDAARD (GC-FID)

GHB on-site test	GC-FID (gouden standaard)		
	Positief	Negatief	Totaal
Positief	51	26	77
Negatief	19	235	254
Totaal	70	261	331

De afkapwaarde voor beide testen is 10 mg/L.
GC-FID: gevalideerde gaschromatografiemethode.

TABEL 3 SPECIFICITEIT EN SENSIVITEIT GHB-TESTEN BEREKEND MET AFKAPWAARDEN (10 EN 50 MG/L) BIJ VERSCHILLENDE INCLUSIES VAN MONSTERS

	Positieve vitamine C-monsters geïncubeerd in analyse	Monsters EtOH \geq 2 g/L geïncubeerd in analyse	Specificiteit % (95%-BI)	Sensitiviteit % (95%-BI)	Specificiteit % (95%-BI)	Sensitiviteit % (95%-BI)
			Afkapwaarde 10 mg/L		Afkapwaarde 50 mg/L	
GHB on-site test	nee	ja	90 (86-93)	73 (61-83)	97 (94-99)	75 (62-85)
	nee	nee	98 (90-100)	83 (67-92)	100 (94-100)	73 (54-86)
	ja	ja	86 (82-90)	82 (72-88)	96 (93-98)	77 (67-85)
Viva-E GHB immunoassay	-	ja	94 (90-96)	85 (76-91)	100 (98-100)	88 (80-94)
	-	nee	99 (92-100)	74 (61-84)	99 (93-100)	94 (81-98)

EtOH: ethanol, 95%-BI: 95%-betrouwbaarheidsinterval.

Om de daadwerkelijke invloed van vitamine C op de GHB *on-site* test te onderzoeken is de specificiteit en sensitiviteit ook berekend voor de totale groep, inclusief de positieve vitamine C-monsters. Bij een afkapwaarde van 10 mg/L leidde dit tot een lagere specificiteit en een hogere sensitiviteit (tabel 3). De specificiteit en sensitiviteit van artsen op de SEH voor het stellen van de diagnose 'GHB-intoxicatie' is respectievelijk 93% en 66%.

BESCHOUWING

Voor zo ver ons bekend is, is dit de eerste prospectieve studie naar testen voor GHB in urine die snel uitgevoerd kunnen worden in ziekenhuizen. Eerdere studies naar de analyse van GHB omvatten enzymatische assays, colorimetrische, massaspectrometrie- en gaschromatografiemethoden [6,8,10,13,15,17]. De testen die in deze studie zijn onderzocht hebben met name qua analyse-tijd voordelen ten opzichte van de eerder genoemde methoden. Het aantal foutnegatieve resultaten in onze studie was voor beide testen te hoog (sensitiviteit < 90%). Een mogelijke verklaring hiervoor is dat onbekende verbindingen de enzymatische reactie verstoren waarop deze testen zijn gebaseerd. In een studie van Hasan et al. naar een enzymatische methode om GHB te meten in urine werd een sensitiviteit van 100% en een specificiteit van 98,4% gevonden [10]. De verschillen met onze studie kunnen mogelijk verklaard worden door het gebruik van een andere afkapwaarde (15 mg/L), het beperkte aantal GHB-positieve monsters (n = 36) en een andere patiëntenpopulatie voor de GHB-negatieve monsters (gezonde vrijwilligers).

Ondanks dat de specificiteit van de GHB-testen in onze studie voldoende was, bleek dat ethanol in GHB-negatieve patiënten in een enkel geval voor foutpositieve resultaten kan zorgen. Dit komt overeen met een studie van Drogies et al. waarin wordt beschreven dat ethanol bij een enzymatische methode kan zorgen voor een verhoogde GHB-concentratie, maar dat dit zelden leidt tot een klinisch relevant resultaat [18]. Bij de interpretatie van een testuitslag dient rekening te worden gehouden met de kleine kans op foutpositieven. Uit ons onderzoek blijkt echter ook dat foutnegatieve resultaten voorkomen wanneer ethanolspiegels ≥ 2 g/L niet worden geëxcludeerd of een afkapwaarde van 10 mg/L wordt gebruikt. De sensitiviteit is dan namelijk kleiner dan de gewenste 90%.

Onze studie richt zich vooral op de analytische validatie van de testen. Daarnaast geeft dit onderzoek ook inzicht in het stellen van de diagnose 'GHB-intoxicatie' door de arts zonder gebruik te maken van een diagnostische test. In deze studie is niet onderzocht wat de klinische consequenties zijn van deze test voor de patiënt.

Een limitatie van deze studie is dat de analyses van de GHB *on-site* test zijn uitgevoerd door analisten van de ziekenhuisapotheek. Wanneer de test geïmplementeerd zou worden in de kliniek vindt uitvoering plaats door verpleegkundigen. Door deze analytische validatie door analisten te laten uitvoeren, hebben we echter een goed inzicht verkregen in de betrouwbaarheid van de test zelf zonder de invloed van externe factoren (bijvoorbeeld de drukte op de SEH).

De *power* van deze studie is een andere limitatie, omdat niet de benodigde 94 positieve uitslagen van de GHB *on-site* test zijn geïnccludeerd, vanwege de exclusie van positieve vitamine C-uitslagen conform de gebruiksaanwijzing van de test [14]. Door het substantiële aantal positieve vitamine C-uitslagen in deze populatie, is deze test niet bruikbaar in de praktijk. Het aantal monsters voor de Viva-E GHB immunoassay was wel voldoende.

Tot slot, de gemeten concentraties lagen bij slechts 13 van de 331 monsters tussen de 5 tot 100 mg/L, de meeste monsters waren negatief of duidelijke positief (> 100 mg/L). Voor het onderzoeken van de test was het beter geweest als er meer waarden rond de afkapwaarden waren meegenomen. Aan de andere kant zijn dit wel de concentraties die we in de klinische praktijk tegenkomen.

CONCLUSIE

Uit ons onderzoek blijkt dat de GHB-sneltest, de Drug-Check GHB *on-site* test, niet betrouwbaar genoeg is om in te zetten op de SEH. De voor het laboratorium beschikbare Viva-E GHB immunoassay heeft daarentegen een adequate specificiteit (99%) en sensitiviteit (94%) mits een afkapwaarde van 50 mg/L wordt ingesteld en monsters met een alcoholpromillage ≥ 2 g/L niet getest worden. ■

Zie voor literatuurreferenties: NPFO.nl.