

U. Mareck, A. Kress, U.W. Schwarz, H. Geyer, W. Schänzer

## Untersuchung und Beurteilung eines neuen Drogenscreening Test-Sticks zur Prävention von Cannabismissbrauch im Sport

*Examination of commercially available THC drug screen test devices*

Institut für Biochemie, Deutsche Sporthochschule Köln

### Zusammenfassung

In IOC-akkreditierten Doping-Laboratorien wird für den Nachweis des Missbrauchs von Cannabis-Produkten wie Marihuana und Haschisch der Tetrahydrocannabinol-Metabolit Carboxy-THC mittels GC-MS bestimmt. Für diesen THC-Metaboliten wurde ein Grenzwert von 15 ng/ml festgelegt, um Positiv-Befunde aufgrund Passivrauchens zu vermeiden. Seit langem sind THC-Drogentest-Sticks für Urin bekannt, deren Nachweisgrenzen in der Regel bei 50 ng/ml Carboxy-THC liegen. Die Firma "ulti med" (Ahrensburg, Deutschland) hat jüngst Drogentest-Sticks für Urin entwickelt, deren Nachweisgrenze dem Grenzwert des IOC angepasst ist (15 ng/ml Carboxy-THC). Der Immunoassay-Test verwendet einen monoklonalen Antikörper, der gegen den THC-Metaboliten gerichtet ist. Diese Test-Sticks wurden untersucht und die Ergebnisse mit denen der GC-MS verglichen. Im Rahmen einer Methodenvalidierung wurden Linearität und Messgenauigkeit bestimmt. Außerdem wurden eine Vielzahl Carboxy-THC negativer (bei denen zum Teil die Applikation einer hohen Menge an Medikamenten angegeben war), Carboxy-THC positiver und Urine, die weniger als 15 ng/ml THC-Metabolit enthalten, gemessen. Die Ergebnisse der verwendeten Test-Sticks stimmten in den meisten Fällen mit den dazugehörigen GC-MS-Ergebnissen überein. In 74 Carboxy-THC positiven Urinen (> 15 ng/ml Carboxy-THC) traten vier falsch negative Ergebnisse auf. 15 Urine, die Konzentrationen von Carboxy-THC zwischen 2 und 15 ng/ml enthielten, wiesen ein falsch positives Ergebnis auf. Die Auswertung der Testproben im Bereich der Nachweisgrenze (Carboxy-THC-Gehalt 10-20 ng/ml) ergab einen Anteil von 33% unkorrekter Ergebnisse. Grundsätzlich sind die untersuchten Test-Sticks dazu geeignet, Missbrauch von Cannabis-Produkten wie z.B. Marihuana und Haschisch nachzuweisen und könnten somit in der Doping-Prävention eingesetzt werden.

**Schlüsselwörter:** Doping-Prävention, Cannabis, Sport, THC Test-Sticks

### Einleitung

In IOC-akkreditierten Doping-Laboratorien wird für den Nachweis des Missbrauchs von Cannabis-Produkten wie Marihuana und Haschisch der Tetrahydrocannabinol-Metabolit Carboxy-THC (11-nor-9-carboxy- $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol) mittels GC-MS bestimmt. Für diesen THC-Metaboliten wurde ein Grenzwert von 15 ng/ml festgelegt, um Positiv-Be-

### Summary

The analysis of tetrahydrocannabinol in IOC accredited doping control laboratories detecting misuse of cannabis products like marijuana and hashish is performed by GC-MS. A cut-off limit of 15 ng/ml for the main metabolite 11-nor- $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid has been defined in order to avoid false-positive results due to passive smoking. THC drug screen devices adjusted to a cut off level of 50 ng/ml carboxy-THC are commercially available. Recently an on-site screening method for monitoring marijuana use / misuse at a cut off concentration of 15 ng/ml carboxy-THC urine specimen which corresponds to the cut off limit in sports was developed by "ulti med" (Ahrensburg, Germany). The principle of this screening method is based on lateral flow immunoassay technique where monoclonal antibodies are used for the specific binding of carboxy-THC. The THC drug screen test devices with the IOC cut off level of 15 ng/ml carboxy-THC were investigated and the results compared with the GC-MS analysis. Validation including determination of linearity and measurement of uncertainty was performed. Additionally various doping control samples were tested: a) carboxy-THC negative urines (partly with high amounts of non-THC drugs), b) carboxy-THC positive urines and c) urines containing less than 15 ng/ml carboxy-THC. The results obtained using the THC drug screen device corresponded in most of the cases with the GC-MS analysis. In 74 THC positive urine samples (concentration of carboxy-THC > 15 ng/ml) four false negative results appeared, whereas one false positive result was detected in 15 urine samples containing concentrations of carboxy-THC between 2 and 15 ng/ml. The evaluation of the test samples containing between 15 and 20 ng/ml carboxy-THC shows 33% incorrect results. The investigated THC drug screen test devices with the cut off level of 15 ng/ml THC-metabolites are feasible to detect misuse of cannabis products like marijuana or hashish.

**Key words:** doping prevention, cannabinoids, sport, THC drug screen test device

funde aufgrund Passivrauchens (5,8,12,13,16) zu vermeiden. Seit langem sind THC-Drogentest-Sticks für Urin bekannt, deren Nachweisgrenzen in der Regel bei 50 ng/ml Carboxy-THC liegen (15). Die Firma "ulti med" (Ahrensburg, Deutschland) hat jüngst Drogentest-Sticks für Urin entwickelt, deren Nachweisgrenze dem Grenzwert des IOC angepasst ist (15 ng/ml Carboxy-THC).

Mögliche Anwendungsgebiete für diesen Drogentest könnten Doping-Analytik, Straßenverkehr, Arbeitsmedizin, Substitutionstherapie, Strafvollzug und forensische Medizin sein. Ein Einsatz in der Doping-Prävention, speziell im Jugendbereich wäre ebenfalls vorstellbar.

Aus diesem Grunde sollen Qualität und Praktikabilität der THC Drogentest-Sticks mit dem IOC Grenzwert von 15 ng/ml Carboxy-THC untersucht werden.

## Material und Methoden

### THC-Test-Sticks (9)

Die verwendeten THC-Test-Sticks (Nachweisgrenze 15 ng/ml) wurden von der Firma "ulti med Products" (Deutschland) GmbH, Reeshoop 1, 22926 Ahrensburg zur Verfügung gestellt. Der Immunoassay-Test verwendet einen monoklonalen Antikörper, der gegen den THC-Metaboliten Carboxy-THC gerichtet ist. Die THC-Test-Sticks können sowohl visuell gelesen als auch halbquantitativ über einen Reader ausgewertet werden. Im folgenden wird in erster Linie die visuelle Auswertung der Sticks beschrieben, da sie für die vorliegende Problemstellung relevant ist.

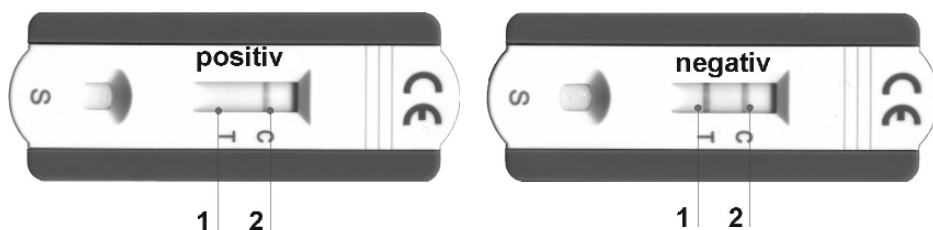


Abbildung 1: Interpretation von Testergebnissen

Ein negatives Ergebnis wird durch zwei farbige Linien angezeigt. Sowohl T-(1) als auch C-Linie (2) sind gut sichtbar. Ein positives Befund (Carboxy-THC > 15 ng/ml) wird angezeigt durch alleiniges Auftreten der C-Linie (2). Die T-Linie (1) ist nicht sichtbar (Abb. 1).

### Urinproben

Zur Methodvalidierung wurde ein hauseigener Leerurin verwendet.

Bei den untersuchten Urinen handelt es sich um Trainings- und Wettkampf-Proben aus olympischen und nicht-olympischen Sportarten nationaler und internationaler Verbände, die im Rahmen von Dopingkontrollen mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS) am Institut für Biochemie der Deutschen Sporthochschule in Köln analysiert wurden.

### Bestimmung von Carboxy-THC mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie

Analytisch wird der THC-Metabolit zunächst in der Screening-Prozedur zusammen mit den verbotenen anabolen Steroiden erfasst (6,7).

Dazu werden die im Urin ausgeschiedenen Metaboliten, da sie zum Teil als Konjugate mit Glucuronsäure vorliegen,

enzymatisch gespalten, die "freie" Verbindung anschließend mit tert.-Butylmethylether extrahiert und nach Derivatisierung mit MSTFA (N-Methyl-N-trimethylsilyl-trifluoroacetamid) zur Verbesserung der chromatographischen Eigenschaften gaschromatographisch-massenspektrometrisch identifiziert.

Zur Bestätigung und Gehaltsbestimmung wird eine modifizierte Methode verwendet (10).

Die Identifizierung des THC-Metaboliten erfolgt durch den Vergleich der Intensitäten dreier signifikanter Ionen (m/z: 488, 473, 371) zwischen Standard und Probe.

Die Konzentration des THC-Metaboliten in der Urinprobe wird über den internen Standard 11-Nor-9-carboxy-<sup>9</sup>-tetrahydrocannabinol-D<sub>9</sub> (deuterierter THC-Metabolit) -15 ng/ml- quantifiziert.

## Ergebnisse

### I. Methodvalidierung

Zur Bestimmung der Linearität wurden mit Carboxy-THC präparierte Urine in den Konzentrationen 2, 5, 10, 15, 20 und 25 ng/ml verwendet. Zum Abgleich positiv-negativ wurden ein Leerurin sowie ein Urin mit 100 ng/ml Carboxy-THC gemessen. Es wurden Doppelbestimmungen durchgeführt.

Die THC-Test-Sticks wiesen negative Ergebnisse für die Konzentrationen 2, 5, 10, 15 und 20 ng/ml Carboxy-THC auf. Der Urin mit der Konzentration 25 ng/ml Carboxy-THC zeigte einen positiven Befund.

Zur Bestimmung der Messgenauigkeit wurden mit Carboxy-THC präparierte Urine in den Konzentrationen 10, 15 und 20 ng/ml verwendet. Die Bestimmungen wurden jeweils 10 Mal durchgeführt. Die THC-Test-Sticks wiesen folgende Befunde auf: 2 falsch Positive für 10 ng/ml, 3 falsch Positive für 15 ng/ml und 2 falsch Negative für 20 ng/ml.

### Verdünnungsreihe mit einer THC-positiven Probe

Es wurde ein positiver Urin verwendet, dessen mittels GC-MS bestimmte Carboxy-THC-Konzentration 52 ng/ml aufwies. Durch Mischen mit Leerurin wurden folgende Verdünnungsreihen hergestellt: 1:1 (26 ng/ml); 1:2 (17 ng/ml); 1:3 (10 ng/ml); 1:4 (8 ng/ml); 1:5 (6,6 ng/ml). Es wurden Doppelbestimmungen durchgeführt.

Positive Befunde wurden für die Originalurine sowie für die Verdünnungen 1:1 (26 ng/ml) und 1:2 (17 ng/ml) erhalten. Die Urine mit geringerer Konzentration an Carboxy-THC wiesen negative Ergebnisse auf.

### II. Messung von THC-negativen Doping-Kontroll-Urinen

Es wurden 56 Urine einer Sportart mit erfahrungsgemäß häufiger Verwendung von Schmerzmitteln sowie Polymedikation untersucht. Keine der Proben wies ein positives Ergebnis für THC mit dem Test-Stick auf.

Des Weiteren wurden 117 Urine von Trainings- und Wettkampf-Proben aus olympischen und nichtolympischen Sportarten nationaler und internationaler Verbände untersucht. Auch hier zeigten sämtliche Proben negative Befunde.

### III. Messung von THC-positiven Doping-Kontroll-Urinen

Es wurden insgesamt 74 THC-positive Doping-Kontroll-Urine aus drei Jahrgängen untersucht.

Bei vier Urinen wiesen die Test-Sticks negative Befunde auf, obwohl die Überprüfung mittels GC-MS ein Vorliegen von Carboxy-THC in einer Konzentration größer als 15 ng/ml nachwies. Bei 3 dieser 4 Proben wurden erhöhte pH-Werte zwischen 8 und 9 gemessen.

### IV. Messung von Doping-Kontroll-Urinen mit einem THC-Gehalt unter 15 ng/ml

Es wurden 15 Doping-Kontroll-Urine untersucht, die nach GC-MS-Analyse einen THC-Gehalt zwischen 2 und 15 ng/ml aufwiesen.

14 Urine wurden negativ getestet. Ein Urin zeigte auch nach mehrfacher Überprüfung einen positiven Befund an. Die GC-MS-Analyse ergab für diesen Urin einen Carboxy-THC-Gehalt von 10 ng/ml.

## Diskussion

Der untersuchte THC Test-Stick ist ein einfach anwendbarer, schneller chromatographischer Immunoassay-Test für den Nachweis des THC-Metaboliten 11-nor- $\Delta^9$ -THC-9-COOH in Humanurin mit einer Nachweisgrenze von 15 ng/ml.

Die visuelle Auswertung sämtlicher Proben weist einen Anteil von 6 % falscher Ergebnisse auf. Schränkt man die Auswertung auf Urine mit einem Carboxy-THC-Gehalt zwischen 10 und 20 ng/ml ein, steigt der Anteil an unkorrekten Ergebnissen auf 33 %. Diese hohe Fehlerquote im Bereich der Nachweisgrenze der Sticks ist sicherlich zum Teil auf mangelnde Erfahrung in der visuellen Auswertung in dem genannten Konzentrationsbereich zurückzuführen. Test-Sticks mit Carboxy-THC-Konzentrationen in diesem Bereich weisen nur sehr schwach ausgeprägte T-Linien auf. Die semi-quantitative Auswertung mit Hilfe des SureScreen Readers führt hierbei zu einer einfacheren Beurteilung der entsprechenden Sticks mit einer geringeren Fehlerquote. Der SureScreen Reader scannt die Linien ein, integriert die entsprechenden Flächen, wandelt die erhaltene Information visuell in ein Chromatogramm um und ermöglicht somit Auswertung und Dokumentation der Testergebnisse in einem Schritt.

Eindeutig positive oder negative Ergebnisse hingegen waren im allgemeinen klar auswertbar.

Falsch negative Ergebnisse waren in der Regel mit einem erhöhten pH-Wert der Urinprobe verbunden. Mittels GC-MS-Analyse konnte in den entsprechenden Urinen die Identität von Carboxy-THC bestätigt werden.

Ein falsch positives Ergebnis, gefunden bei einem Urin mit einem Carboxy-THC-Gehalt von 10 ng/ml (GC-MS), konnte nicht abschließend geklärt werden.

Der Test-Stick liefert lediglich ein erstes Screening-Ergebnis. Insgesamt ist die Spezifität des Immunoassays nicht ausreichend, um zu einem endgültigen, verwertbaren Befund zu kommen. Daher muss jedes positive Ergebnis mittels einer zweiten, unabhängigen Methode, die insbesondere eine höhere Spezifität aufweist (z.B. GC-MS oder LC-MS), kontrolliert werden. Um zuverlässige Screening-Ergebnisse zu garantieren, muss der Hersteller des Test-Sticks eine dokumentierte gleichbleibende nachweisbare Qualität der verwendeten Immunoassays gewährleisten.

Unter Berücksichtigung der vorliegenden Ergebnisse (6% falsche Ergebnisse absolut, 33% falsche Ergebnisse im Bereich der Nachweisgrenze, Möglichkeit von falsch positiven Resultaten) kann dieser Test auch in der präventiven Dopingbekämpfung eingesetzt werden, speziell im Jugendsport, da dieser noch nicht vom Dopingkontroll-System erfasst wird. Dies scheint sinnvoll, da Cannabis-Missbrauch gerade bei Jugendlichen sehr verbreitet ist. Mehrere Untersuchungen haben gezeigt, dass etwa 30% der Jugendlichen bereits Erfahrungen mit Cannabis haben (1,2,3,4).

### Danksagung

Bedanken möchten wir uns für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit bei der Manfred-Donike-Gesellschaft e.V.

## Literatur

1. "Konsum von Partydrogen in den letzten Jahren deutlich gestiegen", <<http://www.aerztezeitung.de/docs/2002/06/19/112a0501.asp?cat=/medizin/cannabis>> (Ärzte Zeitung online am 16.01.03).
2. "Cannabiskonsum bei Jugendlichen immer häufiger" <<http://www.aerztezeitung.de/docs/2002/10/02/177a0802.asp?cat=/medizin/cannabis>> (Ärzte Zeitung online am 16.01.03).
3. "Jeder Dritte hat Cannabis probiert". <<http://www.aerztezeitung.de/docs/2002/10/24/192a0703.asp?cat=/medizin/cannabis>> (Ärzte Zeitung online am 16.01.03).
4. "Junge Europäer halten Cannabis für ungefährlich" <<http://www.aerztezeitung.de/docs/2002/11/27/215a2003.asp?cat=/medizin/cannabis>> (Ärzte Zeitung online am 16.01.03).
5. Cone EJ, Johnson RE, Darwin WD, Yousefnajad D, Mell LD, Paul BD, Mitchell J: Passive inhalation of marijuana smoke; urinalysis and room air levels of delta-9-tetrahydrocannabinol. *J Anal Toxikol* 11 (1997) 89-96.
6. Donike M, Geyer H, Gotzmann A, Kraft M, Mandel F, Nolteernsting E, Opfermann G, Sigmund G, Schänzer W, Zimmermann J: *Dope analysis*. Bellotti P, Benzi G, Ljungqvist A (eds): Official proceedings. IAAF World Symposium on Doping in Sport. Florenz 1987. IAAF (1988) 53-79.
7. Geyer H, Schänzer W, Mareck-Engelke U, Nolteernsting E, Opfermann G: Screening procedure for anabolic steroids - The control of the hydrolysis with deuterated androstosterone glucuronide and studies with direct hydrolysis. Schänzer W et al (eds) Recent advances in doping analysis (5). Sport und Buch Strauß, Köln (1998) 99-102.
8. Law B, Mason PA, Moffat AC, King LJ, Marks V: Passive inhalation of cannabis smoke. *J Pharm Pharmacol* 36 (1984) 578-81.
9. Mareck U, Kress A, Schwarz W, Geyer H, Schänzer W: Feasibility study on commercially available THC drug screen test devices. Schänzer W et al (eds) Recent advances in doping analysis (11). Sport und Buch Strauß, Köln (2003) in press.
10. Mareck-Engelke U, Geyer H, Schänzer W: Tetrahydrocannabinol (THC) in dope control. Schänzer W et al (eds) Recent advances in doping analysis (7). Sport und Buch Strauß, Köln (1999) 51-60.
11. Mareck-Engelke U, Geyer H, Schänzer W: Cannabismisbrauch im Hochleistungssport. *Dtsch Z Sportmed* 10 (2001) 280-284.
12. Morland J, Bugge A, Skuterud B, Steen A, Wethe GH, Kjeldsen T: Cannabis in blood and urine after passive inhalation of cannabis smoke. *J Forensic Sci* 30 (1985) 997-1002.

13. *Mule SJ, Lomax P, Gross SJ*: Active and realistic passive marijuana exposure tested by three immunoassays and GC-MS in urine. *J Anal Toxicol* 12 (1988) 113-116.
14. *Smith-Kielland A, Skuterud B, Morland J*: Urinary excretion of 11-nor-9-carboxy-delta9-tetrahydrocannabinol and cannabinoids in frequent and infrequent drug users. *J Anal Toxicol* 23 (1999) 323-332.
15. *Pallenbach E*: Haschisch und Marihuana – Partyspaß, gefährliche Droge oder Arzneimittel? *Deutsche Apotheker Zeitung* 19 (2003) 2277-2286.
16. *Perez-Reyes M, DiGiuseppi S, Mason AP, Davis KH*: Passive inhalation of marijuana smoke and urinary excretion of cannabinoids. *Clin Pharmacol Ther* 34 (1983) 36-41.

Korrespondenzadresse:  
**Dr. Ute Mareck**  
 Institut für Biochemie  
 Deutsche Sporthochschule Köln  
 Carl-Diem-Weg 6, 50933 Köln  
 e-mail: [u.mareck@biochem.dshs-koeln.de](mailto:u.mareck@biochem.dshs-koeln.de)

## Kommentar

Die vorgelegte Untersuchung von *Mareck* und Mitarbeitern ist aus Sicht der Schriftleiter für die Sportpraxis von hoher Bedeutung, da mit dem neuen Verbot der Verwendung von Cannabinoiden (Haschisch, Marihuana) für alle Sportarten im Wettkampf durch die WADA vom 1. Januar 2004 ganz besondere Probleme auf den Sport und die beratenden Ärzte zukommen werden.

Obwohl Cannabis in Deutschland eine illegale Droge ist, wird ein moderater Umgang von den Behörden toleriert. Dieses Verhalten unterstützt wahrscheinlich einen zunehmend bedenkenlosen Konsum von Cannabis-Produkten bei Jugendlichen.

Der Konsum von Cannabinoiden in der Trainingsphase kann aufgrund der hohen Halbwertszeit des Wirkstoffs THC von ca. 20-36 Stunden dazu führen, dass selbst nach Wochen der Hauptmetabolit des THC noch nachweisbar ist. In diesem Falle sind Konzentrationen oberhalb des Grenzwertes bei einer Wettkampfkontrolle nicht grundsätzlich auszuschließen. Eine pharmakologische Wirksamkeit zu diesem Zeitpunkt ist nicht belegt.

**Was muss nun die Strategie im Sport sein, was können wir den Sportverbänden raten?**

Notwendige Strategien sind Aufklärung durch sachliche Informationen und persönliche Gespräche und Kontrollen - entweder als Selbst- oder als Fremdkontrollen. Die Informa-

tionen über die potentiellen Gefahren des Genusses von Cannabinoiden für positive Dopingtests müssen allen Sportlern umfassend bekannt gegeben werden; hier sind die Sportverbände besonders gefragt. Andererseits stehen die Sportler in Konflikten, die auf dem permissiven Verhalten der Gesellschaft gegenüber dem Konsum von Cannabis beruhen.

Die Möglichkeit zur relativ einfachen Messung von THC mit einem einfachen Stick kann zur sachlichen Information und zur Erziehung von jungen Sportlern beitragen, wie einige Beispiele aus Sportinternaten belegen. Hier kann im Vorfeld bei ausreichenden Verdachtsmomenten von Erziehern oder Betreuern ohne weitreichende Konsequenzen für die Jugendlichen getestet werden, ob ein Cannabismissbrauch stattgefunden hat. Dieser Tatbestand kann dann intern diskutiert und weiter abgeklärt werden, ohne die Jugendlichen einem offiziellen Verfahren auszusetzen.

Mit dem im Artikel untersuchten Teststick könnte der Betreuer des Athleten vor dem Wettkampf testen, ob nach Cannabis-Konsum in der wettkampffreien Zeit (was nach den Dopingregeln nicht verboten ist) am Tag des Wettkampfs noch dopingrelevante urinaire Konzentrationen des THC-Metaboliten vorliegen und den Athleten somit vor einer Dopingfalle schützen.

J.M. Steinacker, Ulm

Untersuchung und Beurteilung eines neuen Drogenscreening Test-Sticks zur Prävention von Cannabismissbrauch im Sport  
 (Dtsch Z Sportmed 55 (2004) 46-49)