

Aktuelle Nachweismethoden von Substanzkonsum

M. Böttcher¹, M. Waizmann²

Drogen und Medikamentenmissbrauch gewinnen in weiten Teilen unserer Gesellschaft an Bedeutung. Darüber hinaus hat sich die Zahl neuer missbrauchsrelevanter Substanzen in Europa in den letzten Jahren dramatisch erhöht (Abb. 1) und die Bedeutung des Internets als Informationsquelle und als Teil des Vertriebs für viele moderne

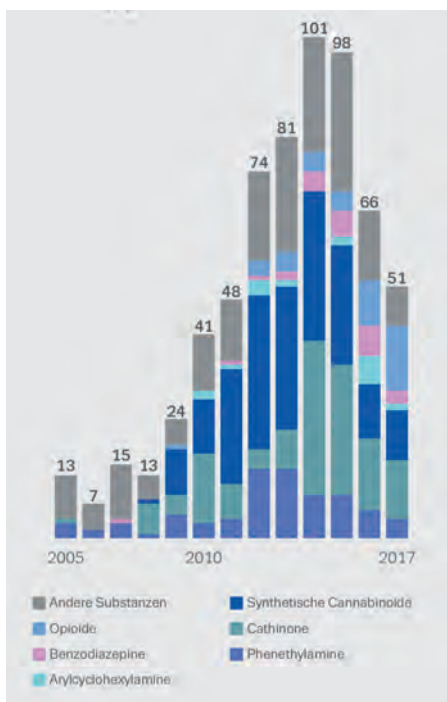


Abb. 1: Anzahl und Kategorien der dem EU-Frühwarnsystem erstmals gemeldeten neuen psychoaktiven Substanzen, 2005 bis 2017 (Europäischer Drogenbericht 2018, siehe: www.emcdda.europa.eu/system/files/publications/8585/20181816_TDAT18001DEN_PDF.pdf)

Drogen nahm zu. Um auf diese besorgniserregende Entwicklung zu antworten, werden immer speziellere Methoden zum Nachweis eines Drogenkonsums benötigt.

¹ MVZ Labor Dessau GmbH, Dessau-Roßlau

² MEDCENTER Leipzig

Der Nachweis von missbrauchsrelevanten Substanzen („Drogenscreening“) kann in den unterschiedlichsten Zusammenhängen notwendig werden. Beispielhaft sind hier Anwendungen im Bereich der Suchtmedizin, der Arbeitsmedizin (Einstellungsuntersuchungen, „Workplace Drug Testing“ vgl. www.ewdts.org/ewdts-guidelines.html) der Fahreignungsdiagnostik (vgl. www.dgvm-verkehrsmedizin.de/fachgebiete-und-ihre-richtlinien/), der Leichentoxikologie (forensische Toxikologie) oder weitere juristische Fragestellungen, wie Überwachung von Bewährungsaufgaben, Kindschaftsrecht oder Fragen der Schuldfähigkeit, zu erwähnen. Natürlich muss auch die klassische klinische Toxikologie die neue Vielfalt von Drogen beim Drogenscreening berücksichtigen, da viele Notfallmäßige Intoxikationen auf den Konsum neuerer Drogen zurückzuführen sind. Das Ergebnis eines solchen Screenings kann für den jeweiligen Betroffenen gravierende Folgen im Privat- wie auch im Arbeitsleben nach sich ziehen. Daher müssen die gewählten Nachweismethoden nicht nur sensitiv sondern auch äußerst spezifisch und juristisch verwertbar sein. Neben der Sensitivität der eingesetzten analytischen Methoden entscheidet vor allem die Wahl des zu untersuchenden Körpermaterials über das mögliche Nachweisfenster eines Drogenkonsums. Körperflüssigkeiten, wie Urin, Blut oder Speichel, erlauben den Nachweis der Substanzen im Bereich von Tagen bis Wochen, wobei die Dosishöhe, die Konsumhäufigkeit (gelegentlich/täglich) und auch die Konsumart (rauchen oder spritzen, peroral) die Nachweiszeit beeinflussen. Ferner können, bezogen auf die jeweilige Droge, zusätzlich große Unterschiede im

Metabolismus und der entsprechenden Eliminationskinetik und dem Exkretionsweg (Urin, Stuhl) bestehen.

Der Nachweis eines kürzlichen Drogen-/Medikamentenmissbrauchs erfolgt im Rahmen suchtmedizinischer Therapien noch überwiegend aus Urinproben. Im Vergleich zum Blut bietet die Matrix Urin den Vorteil der zum Teil deutlich höheren Konzentrationen der nachzuweisenden missbrauchsrelevanten Substanzen beziehungsweise ihrer Metaboliten. Hierdurch wurde die Anwendung vergleichsweise unempfindlicher jedoch preiswerter und schneller immunchemischer Verfahren möglich, die den Nachweis von zum Beispiel Amphetaminen, Kokain und Opiaten mit einem Zeitfenster von ein bis fünf Tagen ermöglichen. Da Immunoassays falsch positiv werden können, gelten positive Ergebnisse grundsätzlich als vorläufig und hinweisgebend. Erst durch eine auf einem chromatographischen Prinzip beruhende Analytik wird ein positives Screeningergebnis zum Befund!

Einen Nachteil von Urinproben stellt die teilweise wochenlange Nachweisbarkeit von Benzodiazepinen und dem Cannabis-Metaboliten dar. Ein weiterer Vorteil von Urin ist die auch durch nicht-medizinisches Personal nicht-invasiv durchführbare Probennahme. Um die Abgabe eines negativen „Fremdurins“ oder Manipulationen an der Probe zur Erzielung eines falsch-negativen Ergebnisses auszuschließen (zum Beispiel Zugabe von Detergenzien, Oxidantien etc.), muss die Urinprobe jedoch unter Sichtkontrolle gewonnen werden. Hierdurch ergeben sich häufig Probleme im Ablauf und Belastungen im Arzt-Patienten Verhältnis. Desweiteren erschwert die gegebenenfalls

intentionelle Aufnahme von Flüssigkeit, ganz allgemein die Diurese, die Vergleichbarkeit von Drogenscreenings. Strenggenommen müssten die negativ/positiv Entscheidungsgrenzen beim Drogenscreening, die sogenannten Cutoffs, auf das Urinkreatinin bezogen werden. Dies ist bei immunchemischen Screeningverfahren, insbesondere wenn es sich um Gruppentests handelt, naturgemäß nicht möglich. Für eine mangelnde Vergleichbarkeit der Nachweiszeiten sorgt ferner die pH-abhängige Exkretion diverser Drogen und Medikamente (zum Beispiel Amphetamine, Methadon), die zu sehr unterschiedlichen Nachweiszeiten für die gleiche Substanz führen kann. Der Urin pH-Wert liegt physiologischerweise zwischen fünf und neun. Diese hohe Variabilität beim pH-Wert sorgt für Stabilitätsprobleme bei vielen Substanzen. Insbesondere im alkalischen Bereich sind Cathinone („Badesalze“), Kokain, Zopiclon, 6-Acetylmorphin und andere im Urin instabil, was zu diskrepanten und unplausiblen Ergebnissen bei späteren gerichtsverwertbaren Analysen oder Wiederholungsmessungen führen kann. Das Hauptargument gegen den weiteren Einsatz von Urin im „ungerichteten Drogenscreening“ ist jedoch die Vielzahl neuer missbrauchsrelevanter Drogen und Medikamente (Phenethylamine, Fentanyl, synthetische Cannabinoide und andere) für deren Nachweis keine Immunoassays zur Verfügung stehen. Aber auch bei der Entwicklung chromatographischer Methoden für das Drogenscreening im Urin steht man vor Problemen. Die als Referenzsubstanz benötigten Metaboliten sind zum Teil nicht bekannt oder in vielen Fällen kommerziell nicht verfügbar. Die jeweiligen Muttersubstanzen hingegen sind in der Regel zeitnah nach Auftauchen der Droge als Referenzmaterial für die Labore erhältlich.

Welche alternativen Körpermaterialien mit der Muttersubstanz als Zielanalyt

stehen nun zur Verfügung? Haare sind außerhalb forensischer Fragestellungen auf Grund der aufwändigen Probennahme und Analytik und der daraus resultierenden Kosten nicht „routinetauglich“. Zusätzlich hängt die Vergleichbarkeit der Ergebnisse unter anderem von der Länge der gewonnenen beziehungsweise zur Verfügung stehenden Kopfhare ab und von der Möglichkeit, die Haare als Ganzes oder alternativ segmentweise zu analysieren. Im Blut sind es ebenfalls die Muttersubstanzen, die nachgewiesen werden. Viele der nachzuweisenden Drogen und Medikamente liegen nur in sehr niedriger Konzentration vor, sodass das Nachweisfenster auch bei entsprechend empfindlicherer Analytik häufig kürzer ausfällt als im Urin. Darüber hinaus ist die Probennahme invasiv und Blut daher nicht in allen suchtmedizinischen Einrichtungen immer gewinnbar. Speichel als alternative Matrix ist von zunehmendem Interesse für die Drogenanalytik, da sich die meisten Substanzen im Vergleich zu Blut selektiv anreichern und damit deutlich länger nachweisbar werden. Substanzen mit einem neutralen oder leicht alkalischen pKs-Wert liegen im Blut bei physiologischem pH-Wert eher ungeladen vor und können leichter durch Membranen diffundieren. Im Speichel liegen die Substanzen bei einem mittleren pH-Wert von 6,0 geladen vor und können nur schwer rückdiffundieren. Amphetamine und Derivate haben daher „Oral Fluid/Plasma Ratios“ von > 20 , aber auch Opiate [1], Kokain und die meisten Psychopharmaka [2] reichern sich im Speichel an (vgl. UNODOC, Guidelines for Testing Drugs under International Control in Hair, Sweat and Oral Fluid, www.unodc.org/documents/scientific/ST_NAR_30_Rev.3_Hair_Sweat_and_Oral_Fluid.pdf). Benzodiazepine haben auf Grund der hohen Plasmaproteinbindung ein Ratio von $< 0,5$. Hier muss die Analytik entsprechend empfindlich

sein. Durch die verbesserte Sensitivität neuerer analytischer Methoden, wie der Flüssigchromatographie gekoppelt an Tandem-Massenspektrometer (LC-MS/MS) und die Verfügbarkeit kommerzieller Speichelnahmesysteme, findet das „routinemäßige Drogenscreening“ im Speichel zunehmend Akzeptanz. Speichelproben können einfach und nicht invasiv unter Sichtkontrolle gewonnen werden. Die LC-MS/MS Methode erbringt den direkten Nachweis der Einzelsubstanzen. Eine separate chromatographische Bestätigungsanalyse, wie sie bei positiven immunchemischen Verfahren häufig nötig ist, entfällt. Da die Entwicklung und Anpassung von LC/MS-MS Methoden im Labor stattfinden kann, muss nicht die Einführung entsprechender Immunoassays durch die Diagnostikindustrie abgewartet werden. Die von uns eingesetzte Routinemethode zum Nachweis von Drogen und missbrauchsrelevanten Medikamenten weist bei Entscheidungsgrenzen von 0,1 bis 5,0 ng/ml momentan die folgenden Substanzen nach:

Substitutions-Medikamente: D-/L-Methadon, EDDP, Buprenorphin, Norbuprenorphin

Amphetamine/Cathinone: Amphetamin, Methamphetamin, MDMA, MDA, MBDB, BDB, MDEA, PMMA, Butylone, Mephedron, Methylon, MDPV, alpha-PVP, 4-Methylethcathinon, Pentadron

Benzodiazepine: Diazepam, Nordiazepam, Oxazepam, Midazolam, Flurazepam, Desalkylflurazepam, Temazepam, 7-Aminoclonazepam, Alprazolam, Flunitrazepam, 7-Aminoflunitrazepam, Bromazepam, Lorazepam, Phenazepam

Kokain: Kokain, Benzoyllecgonin, Methyllecgonin, Lidocain

Opiate: Morphin, Codeine, 6-Acetylmorphin, 6-Acetylcodein, Norcodein, Dihydrocodein,

Opiode: Naloxon, Tilidin, Tramadol, O-Desmethyltramadol, Oxycodon, Noroxycodon, Fentanyl, Nortilidin, Hydro-morphon, Noscapin, Loperamid, Dextromethorphan

Cannabinoide: THC

Sonstige: Zolpidem, Zopiclon, Zaleplon, Ketamin, Methylphenidat, Ritalinsäure, Pregabalin, Gabapentin, Bupropion, Diphenhydramin, Doxepin, Quetiapin, Mirtazapin

Als Authentizitätsmarker wird zusätzlich Cortisol und Amylase bestimmt. Zur Probennahme verwenden wir das Sammelsystem von Greiner Bio-One (Abb. 2), bei dem 4 ml eines schwach sauren (Zitronensäure), gelben Puffers für mindestens zwei Minuten im Mund belassen werden. Der Patient spuckt das Speichel-Puffer Gemisch anschließend in den Speichelsammelbecher und verschließt diesen wieder. Die circa 4 ml Speichel-Puffer Gemisch werden dann mit den evakuierten Transferföhrchen aufgenommen, beschriftet und in das Labor gesandt. Es gibt also immer eine A- und eine B-Probe, was bei Anzweiflung der Ergebnisse durch den Patienten beziehungsweise Probanden von Vorteil ist und der Einmaligkeit einer Probe für die Drogenanalytik Rechnung trägt. Im Labor wird die Intensität des gelben Lebensmittel-farbstoffs photometrisch gemessen und daraus der prozentuale Speichelanteil bestimmt. Der Speichelanteil muss beim positiven Nachweis einer Droge mit LC/MS-MS berücksichtigt werden, um einheitliche Entscheidungsgrenzen zu gewährleisten.

In ersten Studien wurden die Positiv-raten von immunchemischen Drogen-screensings im Urin (Cutoffs: Amphetamine 500 ng/ml, Benzodiazepine: 100 ng/ml, Kokain 50 ng/ml, Opiate 100 ng/ml, Buprenorphin 2 ng/ml, EDDP 100 ng/ml) mit den Positiv-raten im Speichel von zwei Patientenkollektiven Opiat-substituierter Patienten (Methadon oder Buprenorphin) aus einem Zeitraum von drei Monaten verglichen: Patientengruppe A (Schwerpunktpraxis Suchtmedizin): 194 Patienten mit 902 Speichelproben und 182 Patienten mit 1.119 Urinproben.



Abb. 2: Speichel Sammelsystem (Greiner Bio-One)
 (1) Speichelsammelflüssigkeit für zwei Minuten im Mundraum behalten
 (2) Speichel-Puffer-Gemisch in den Becher spucken
 (3) Probe mit evakuierten Transferröhrchen aufziehen
 Ohne Abb.: Im Labor erfolgt das Ablesen des Probenvolumens sowie die Messung des Speichelanteils [%] und der Amylase [U/L]. Anschließend wird im Labor die Drogenanalytik durchgeführt.

Patientengruppe B: von 23 weiteren Schwerpunktpraxen erhielten wir im gleichen Zeitraum 1.072 Speichelproben von 612 Patienten. Zum Vergleich wurde die Positivrate aus 9.008 Urinproben von 1.463 Patienten aus 40 Schwerpunktpraxen herangezogen. Anhand der Positiv-raten zeigte sich, dass für Amphetamine (A: 9,3 Prozent, B: 10,3 Prozent) und Kokain (A: 5,2 Prozent, B: 9,8 Prozent) offenbar bessere Nachweisbarkeitszeiten als im Urin erzielt werden (Amphetamine: A: 3,3 Prozent, B: 4,1 Prozent; Kokain: A: 3,9 Prozent, B: 7,2 Prozent). Für Opiate und Benzodiazepine waren die Positiv-raten für beide Matrizes vergleichbar. Wichtig ist, dass für die Substitute auch bei Patienten in Niedrigdosistherapie keine falsch negativen Ergebnisse in Speichelproben erhalten wurden.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass im Rahmen der Substitutionstherapie das Drogenscreening im Speichel mit LC/MS-MS eine verlässliche Alternative zur Drogenanalytik mit Immunoassays im Urin darstellt. Bei entsprechender Anamnese kann auch eine umfängliche „Mult-Target-Analyse“ innerhalb nur einer Substanzklasse zum Beispiel auf Opiate/Opiode oder eine ungerichtete „General-Unknown“ Analyse [3] durchgeführt werden, die dann auch die modernen Designerdrogen nachweisen können. ■

Literatur bei den Autoren

Interessenkonflikte: keine

Korrespondierender Autor:

Dr. rer. medic. Michael Böttcher

Bauhüttenstraße 6, 06847 Dessau-Roßlau

E-Mail: michael.boettcher@laborpraxis-dessau.de