



Kann ein "Multi-Targetscreening" im Speichel das immunchemische Drogenscreening im Urin ersetzen?

Stefan Lierheimer, Michael Böttcher
MVZ Labor Dessau GmbH



Einleitung

Der Nachweis eines kürzlichen Drogen-/Medikamentenmissbrauchs erfolgt im Rahmen einer suchtmedizinischen Therapie überwiegend aus Urinproben und mit immunchemischen Verfahren. Im Vergleich zum Blut bietet die Matrix Urin den Vorteil der zum Teil deutlich höheren Konzentrationen der nachzuweisenden missbrauchsrelevanten Substanzen bzw. ihrer Metaboliten und des daher verlängerten Nachweisfensters. Die Probe kann ferner nicht-invasiv auch durch nicht-medizinisches Personal gewonnen werden. Die Authentizität der Speichelproben wird mit Hilfe der Biomarker Cortisol und Amylase belegt. Um die Authentizität einer Urinprobe zu gewährleisten und mögliche Manipulationen an der Probe (z.B. Zugabe des Substituts, Oxidantien, Detergenzien) zur Erzielung eines falsch negativen Ergebnisses auszuschließen, muss diese unter Sichtkontrolle gewonnen werden. Hierdurch ergeben sich häufig Probleme im Praxisablauf und Belastungen im Arzt-Patienten Verhältnis. Einen weiteren Nachteil von Urin stellt die teilweise wochenlange Nachweisbarkeit einiger Benzodiazepine und des Cannabismetaboliten dar. Durch die verbesserte Sensitivität der analytischen Methoden (LC-MS/MS) und die Verfügbarkeit kommerzieller Speichelnahmesysteme, erscheint für das „routinemäßige Drogenscreening“ die Matrix Speichel zunehmend als mögliche Alternative zum Urin. Speichelproben können einfach unter Sichtkontrolle gewonnen werden. Die LC-MS/MS Methode erbringt den direkten und eindeutigen Nachweis der Einzelsubstanzen. Bestätigungs- bzw. Differenzierungsanalysen wie sie bei immunchemischen Verfahren notwendig sind, entfallen daher.

Methoden

Speichel: Die Probengewinnung erfolgte mit Hilfe des in Abb. 1 beschriebenen Sammelstystems. Die Proben wurden im Labor mit korrespondierenden internen Standards für alle Analyten versetzt (je 0.25 ng/mL) und einer Flüssig-Flüssig-Extraktion unterzogen. Anschließend wurden die Proben in einem 6-minütigen chromatographischen Lauf auf einem UPLC-MS/MS-System gemessen. Für alle Analyten galt ein Cutoff von 1 ng pro mL Speichel. Cortisol wurde im chromatographischen Lauf mitbestimmt. Amylase (Roche Diagnostics, Mannheim) wurde auf einem Olympus AU680 bestimmt. Der Speichelanteil wurde colorimetrisch ebenfalls auf dem AU680 gemessen. Dafür wurde der in der Speichelsammellösung des Entnahmesystems enthaltene gelbe Lebensmittelfarbstoff verwendet (Abb. 2). Urin: Die Proben wurden mit Hilfe von immunchemischen Tests (Thermo Scientific) auf dem Olympus AU680 auf Drogen und Medikamente gescreent. Dabei galten folgende Cutoff-Konzentrationen:

Amphetamine Cutoff: 500 ng/mL Benzodiazepine Cutoff: 100 ng/mL
Kokain Cutoff: 50 ng/mL Opiate Cutoff: 100 ng/mL

Patienten

Es wurden 7254 Urinproben von 1098 Substitutionspatienten in einem Zeitraum von 3 Monaten mit den Immunoassays routinemäßig auf einem Olympus AU680 gemessen. Im gleichen Zeitraum wurden 795 Speichelproben von 455 Substitutionspatienten mit LC-MS/MS analysiert. Zwei Kontrollgruppen von nicht drogen-konsumierenden Freiwilligen dienten als Referenzkollektiv für den zu erwartenden Bereich des prozentualen Speichelanteils (Abb. 4) und des gewinnbaren Probenvolumens (Abb. 3).

Erfasste Analyten im "Multi-Targetscreening-Speichel"

Amphetamine	Benzodiazepine	Benzodiazepine	Opiate
Amphetamin	Diazepam	Alprazolam	Morphin
Methamphetamin	Nordiazepam	1-OH-Alprazolam	6-Acetylmorphin
MDA	Oxazepam	Flurazepam	Codein
MDMA	Temazepam	2-OH-Ethylflurazepam	6-Acetylcodein
MDEA	Flunitrazepam		Norcodein
MBDB	7-Aminoflunitrazepam		Dihydrocodein
BDB	Clonazepam		
PMA	7-Aminoclonazepam		
PMMA	Bromazepam		
Methylon	Lorazepam		
Butylon	Midazolam		
Mephedron	1-OH-Midazolam		
Opiode	Sonstige	Kokain	Cannabinoide
Tramadol	Zolpidem	Kokain	THC
Tilidin	Zopiclon	Benzoylcegonin	
Oxycodon	Zaleplon		
Naloxon	Ketamin		
Fentanyl	Methylphenidat		
Methadon	Cortisol		
Buprenorphin			

Ergebnisse

Abb. 3: Probenvolumen:

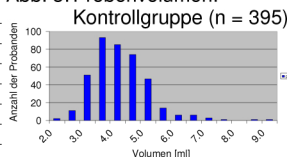


Abb. 4: Speichelanteil: Kontrollgruppe (n = 467)

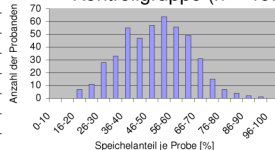


Abb. 2: Kalibration Speichelanteil

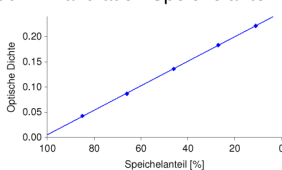


Abb. 1: Speichellentnahmesystem pH 4.2 (Greiner Bio-One)



Abb. 1: Greiner Speichel Sammel-u. Quantifizierungssystem SCS pH 4.2 (Greiner Bio-One, Kremsmünster, Österreich)

- (1) Speichelsammelflüssigkeit für 2 Minuten im Mundraum behalten
- (2) Speichel-Puffer-Gemisch in Becher spucken
- (3) Probe in evakuiertes Probenröhrchen aufziehen

Matrixvergleich

Vor- und Nachteile der gängigen Matrices

Speichel	Blut (Serum/Plasma)	Urin
nicht invasiv	invasiv	Intimsphäre
Analytkonzentrationen niedrig - mittel	Analytkonzentrationen niedrig	Analytkonzentrationen niedrig - sehr hoch
Probenvolumen sehr gering - gering	Probenvolumen gering	Probenvolumen gering - sehr hoch
Manipulation schwierig	keine Manipulation	Manipulation möglich
pH-Änderung bei der Probennahme beeinflusst das S/P-Ratio	--	Ausscheidung wird vom pH-Wert beeinflusst
Kontamination durch Rauchen, intranasale oder perorale Aufnahme	--	--
Beeinträchtigung und Analytkonzentration korrelieren vielleicht	Beeinträchtigung und Analytkonzentration können korrelieren	Beeinträchtigung und Analytkonzentration korrelieren nicht
"Screening-Methoden", Entnahmesysteme nicht etabliert und validiert	--	"Screening-Methoden", Entnahmesysteme vollständig etabliert

Vergleich der Positivraten Urin / Speichel

	Urin (n = 7254)	Speichel (n = 795)
Amphetamine:	4.0%	11.1%
Benzodiazepine:	21.9%	25.9%
Flunitrazepam:	-	6.2%
Kokain:	6.4%	9.1%
Opiate:	22.3%	21.5%
6-Acetylmorphin:	-	16.9%
THC:	-	29.3%
Opiode:	-	3.1%
Sonstige:	-	0.9%

Schlussfolgerung

- Benzodiazepine und Opiate sind in beiden Matrices mit vergleichbarer Positivrate nachweisbar.
- Für Amphetamine und Kokain sind die Positivraten im Speichel signifikant erhöht.
- Methodisch bedingt ist im Speichel ein Heroin- u./o. Rohypnol-Misbrauch direkt erkennbar.
- Bei 4% der Proben konnten zudem immunchemisch im Urin nicht nachweisbare Substanzen erkannt werden.
- Das "Multi-Targetscreening" im Speichel ist eine preiswerte und "informationstalligere" Alternative zum vergleichsweise unspezifischen Screening im Urin mit eventuell notwendiger Differenzierung positiver Ergebnisse.