

Dagmar Lampe und Torsten Binscheck

Drogenteste im Justizvollzug

Anforderungen an die Materialgewinnung und Interpretation

Berliner Betrieb für Zentrale Gesundheitliche Aufgaben (BBGes)

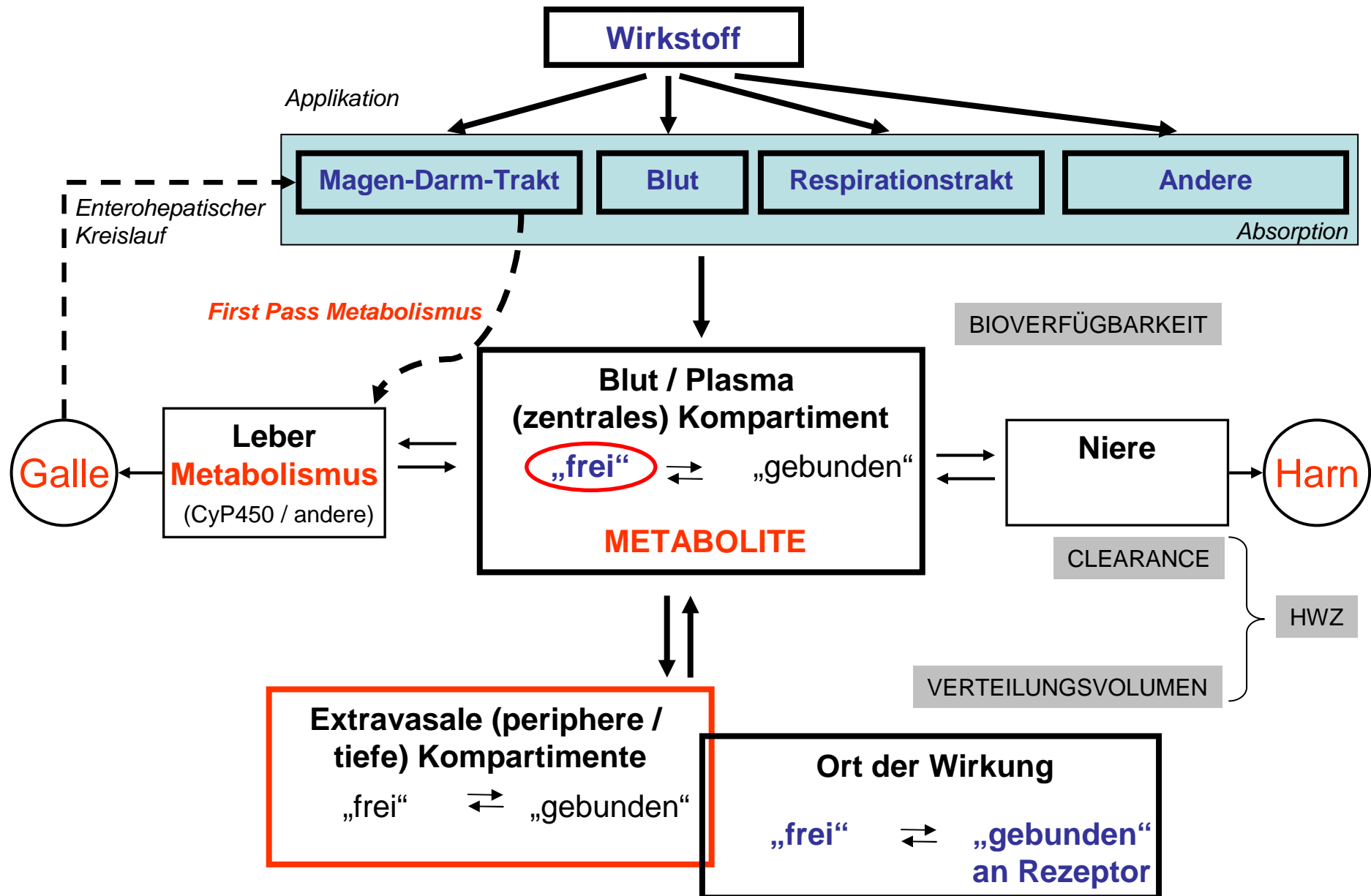
Institut für Toxikologie – Klinische Toxikologie und Giftnotruf Berlin

Oranienburger Str. 285
13437 Berlin
www.bbges.de

Welche Fragen sollen im Justizvollzug durch Drogenkontrolluntersuchungen beantwortet werden?

- 1) Hat der Proband Missbrauchssubstanzen konsumiert?
→ „Drogentest“
- 2) Hat der Proband illegale Missbrauchssubstanzen konsumiert?
→ Problemfall Opiate: Heroin, Codein, Mohnkuchen
- 3) Hat der Proband seit dem letzten positiven Test erneut Missbrauchssubstanzen konsumiert?
→ Sonderfall Cannabinoide: Konzentrationsverlauf
- 4) Sind die Analyseergebnisse rechtsrelevant?

Was passiert mit Missbrauchssubstanzen im Menschen?



Die Wahl des Untersuchungsmaterials bestimmt in Abhängigkeit von der Pharmakokinetik der Substanz(gruppe) die Nachweisdauer des Substanzkonsums.

Material	Nachweisbarkeit nach dem letzten Konsum
Blut / Serum / Plasma	Stunden
Urin	Tage
Haare <i>(chronischer oder wiederholter Konsum)</i>	Monate*

* Das Kopfhaar wächst ca. 1 cm pro Monat. In Abhängigkeit von der Haarlänge kann der Konsum rückwirkend über mehrere Monate sequentiell beurteilt werden.

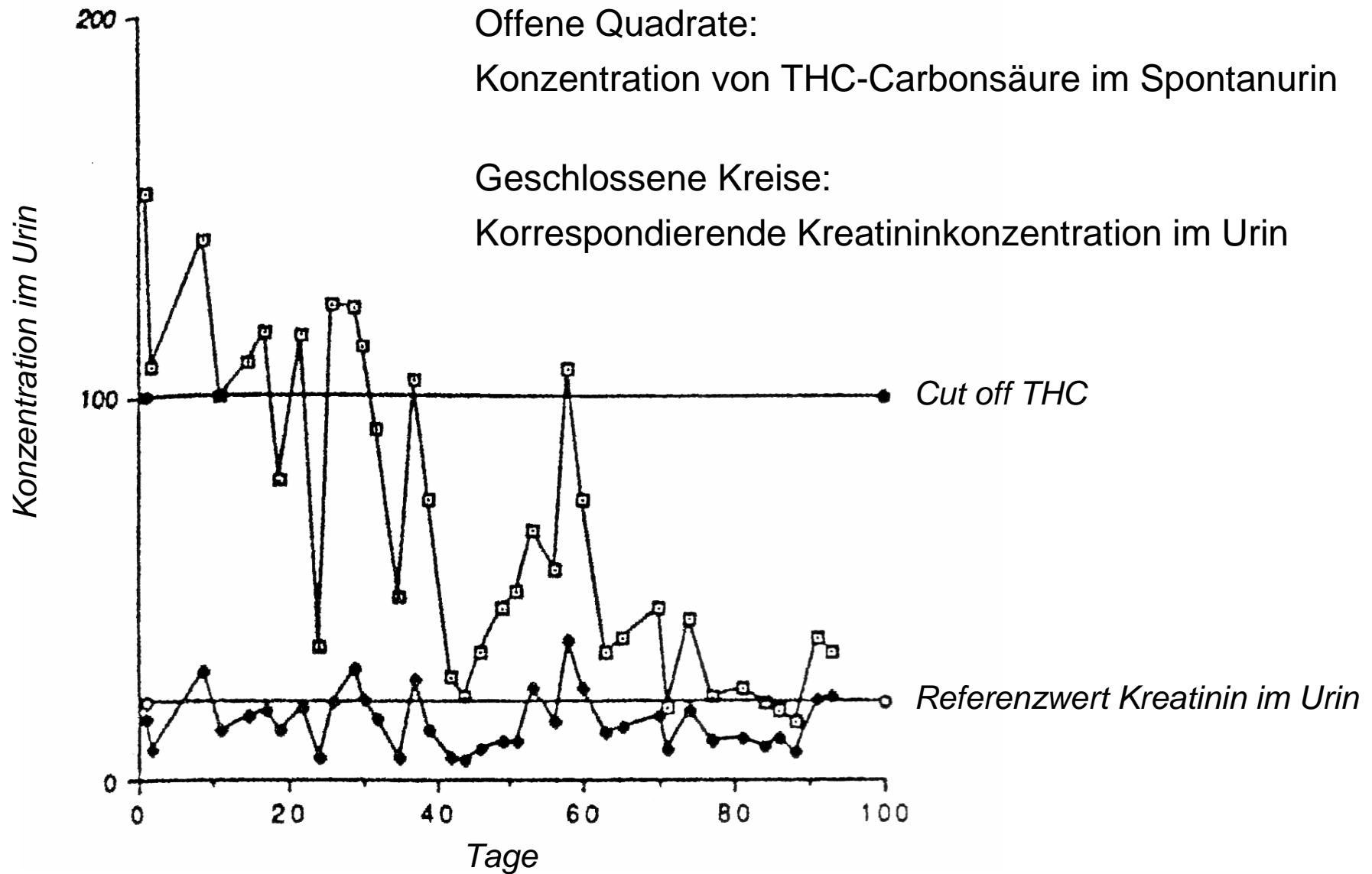
Urin ist bevorzugtes Untersuchungsmaterial zum zeitnahen Nachweis eines Substanzkonsums.

- + Einfach und nicht invasiv zu gewinnen
- + höhere Konzentration als im Blut
- + Längeres Nachweisfenster als im Blut
- „lag time“
- Leicht zu manipulieren
- Wassergehalt des Urins bestimmt die Konzentration und damit im Individualfall die Nachweisbarkeit der Substanz.

Die Bedeutung der Kreatininkonzentration

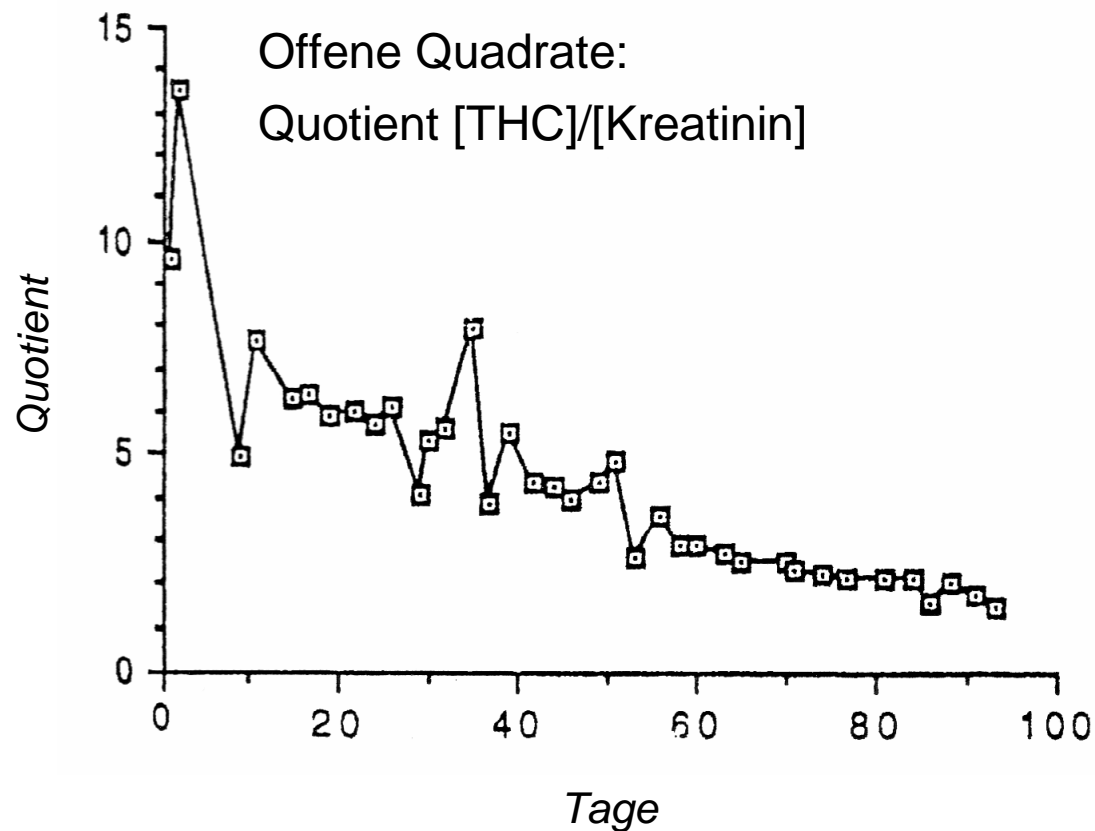
- Kreatinin wird kontinuierlich und in quasi konstanter Menge im Stoffwechsel gebildet und mit dem Urin ausgeschieden.
- Die Kreatininkonzentration im Urin ist daher ein Maß für den Wassergehalt des Urins.
- Die „normale“ Kreatininkonzentration im Urin beträgt 1 g / Liter.
- Urine mit einer Kreatininkonzentration $< 0,3$ g / Liter werden (in unserem Labor) für Drogenkontrolluntersuchungen bei negativem Ergebnis nicht akzeptiert.

Die Kreatininnormierung am Beispiel von THC



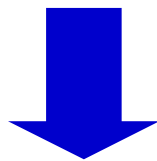
Die Kreatininnormierung am Beispiel von THC

Erst der Bezug der THC-Konzentration auf die Kreatininkonzentration im Urin schließt den Einfluss des schwankenden Wassergehaltes des Urins auf die THC-Konzentration weitgehend aus.



Anforderungen an den „Drogentest“

- Adäquate Empfindlichkeit (wenige falsch-negative Ergebnisse)
- Adäquate Spezifität (wenige falsch-positive Ergebnisse)
- Rasche Verfügbarkeit des Ergebnisses
- Niedrige (= akzeptable) Kosten



Als Screeningtests werden Immunoassays eingesetzt.

Häufig eingesetzte kommerzielle Immunoassays für Drogenkontrolluntersuchungen im Urin

EMIT Enzyme-**M**ultiplied-**I**mmunoassay-**T**echnique

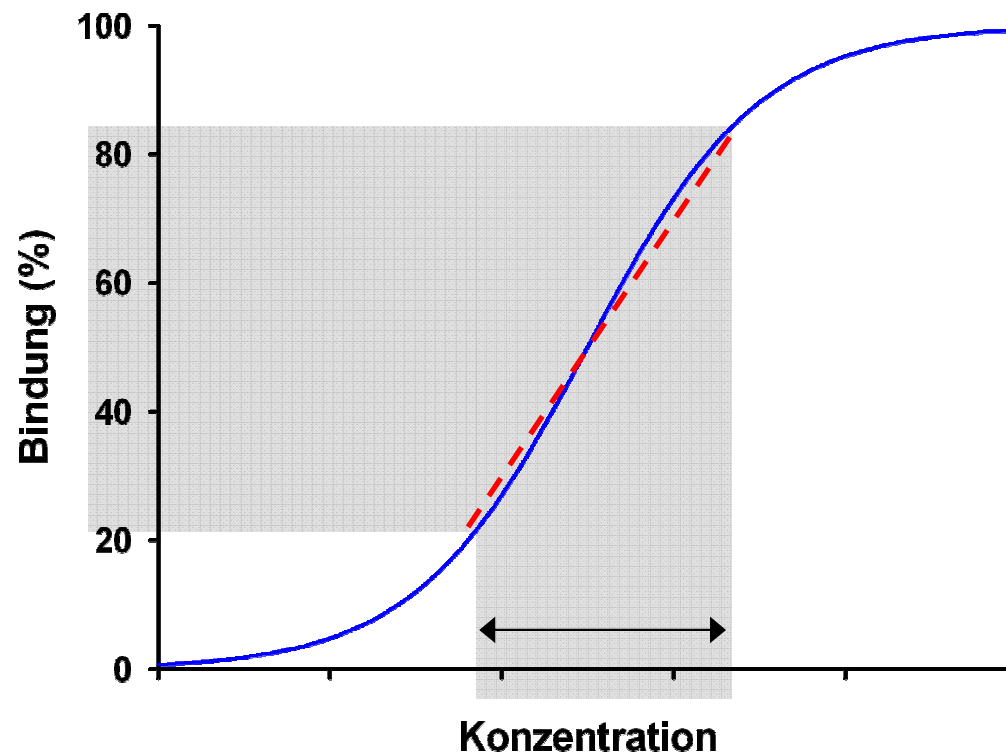
CEDIA Cloned **E**nzyme **D**onor **I**mmunoassay

FPIA Fluorescence-**P**olarisation-**I**mmuno**a**ssay

KIMS **K**inetic-**I**nteraction of **M**icroparticles in **S**olution

Das Prinzip des Immunoassays

- Immunoassays sind Bindungsassays.
- Die Bindung ist sättigbar.
- Nur innerhalb eines testspezifischen Bereichs ist die Gesamtkonzentration des Analyten der antikörpergebundenen Fraktion direkt proportional.



Antikörperspezifität / Kreuzreaktivität

- **Substanzspezifischer Antikörper**

reagiert mit nur einer Substanz

Kreuzreaktivität nicht erwünscht

Beispiele:

EDDP (Methadonmetabolit)

MAM (Heroinmetabolit)

LSD (Lysergsäurediethylamid)

- **Gruppenspezifischer Antikörper**

reagiert mit einer Gruppe

strukturverwandter Substanzen

Kreuzreaktivität beabsichtigt

Beispiele:

Amphetamine

Opiate

Benzodiazepine

Bei allen Immunoassays muss man mit unerwünschten und z. T. nicht vorhersehbaren Kreuzreaktionen rechnen, die zu falsch positiven Untersuchungsergebnissen führen.

Testsensitivität

Jeder Gruppennachweis ist auf **eine** Bezugssubstanz kalibriert.

Gruppennachweis	Bezugssubstanz
Opiate	Morphin
Cocain	Benzoylecognin
Cannabinoide	THC-Carbonsäure
Amphetamin / Ecstasy	Methamphetamin / MDA
Benzodiazepine	Nitrazepam

Im Bezug auf diese Bezugssubstanz hat jeder Test:

- Nachweisgrenze (LOD): Vom Rauschen sicher unterscheidbares Messsignal
- Bestimmungsgrenze (LOQ): z. B. Konzentration des niedrigsten Kalibrators.

Das Konzept des cut-off

Für jeden Drogentest ist unter Berücksichtigung LOD und LOQ sowie der jeweiligen Kreuzreaktivität ein Messwert als Entscheidungsgrenze definiert. Dieser festgelegte Messwert ist der **cut-off** des jeweiligen Tests.

Messwert Proband $>$ cut off: **positives Ergebnis**

Messwert Proband $<$ cut off: **negatives Ergebnis**

Der cut off kann in den Grenzen der Testeigenschaften an die Fragestellung angepasst werden. Aber es gilt der Zusammenhang:

Senkung des cut off \rightarrow Häufigkeit falsch positiver Ergebnisse \uparrow

Erhöhung des cut off \rightarrow Häufigkeit falsch negativer Ergebnisse \uparrow

Qualitätssicherung

Interne Qualitätssicherung:

Tägliche Prüfung des Testablaufs mit zertifiziertem Kontrollmaterial

Externe Qualitätssicherung:

Teilnahme an Ringversuchen (1-2 mal jährlich) unter Leitung von nationalen oder internationalen QK-Institutionen.

Das Untersuchungsmaterial Urin erfordert den Ausschluss von Manipulationen.

1) Überwachte Urinabgabe

→ Fremdurin?

2) Temperaturkontrolle (> 34°C)

3) Messung der Kreatininkonzentration

→ Handelt es sich um Urin?
→ Wassergehalt des Urins tolerierbar?

4) „sample check“

→ Nachweisreaktion ungestört?

Häufige Manipulationen

- Abgabe „urinfarbener“ Flüssigkeit
- Verdünnen des Urins mit „urinfarbener“ Flüssigkeit
- Diuretikagebrauch mit gleichzeitiger Einnahme von Substanzen, die den Urin gelb färben
- Zusatz von Substanzen, die die Antikörperbindung stören (Tenside, Kochsalz, Säure, Lauge, etc.)

Immunoassays als Teststreifen

Nicht-instrumentelle Drogentests (NIDT)

Vorteile

Sofortdiagnostik
keine technische Ausrüstung nötig
kein Fachpersonal erforderlich

Nachteile

Urinqualität

Kreatininkonzentration?
Sample check?

Testqualität

cut off?
Kreuzreaktivität?
Nicht automatisierbar

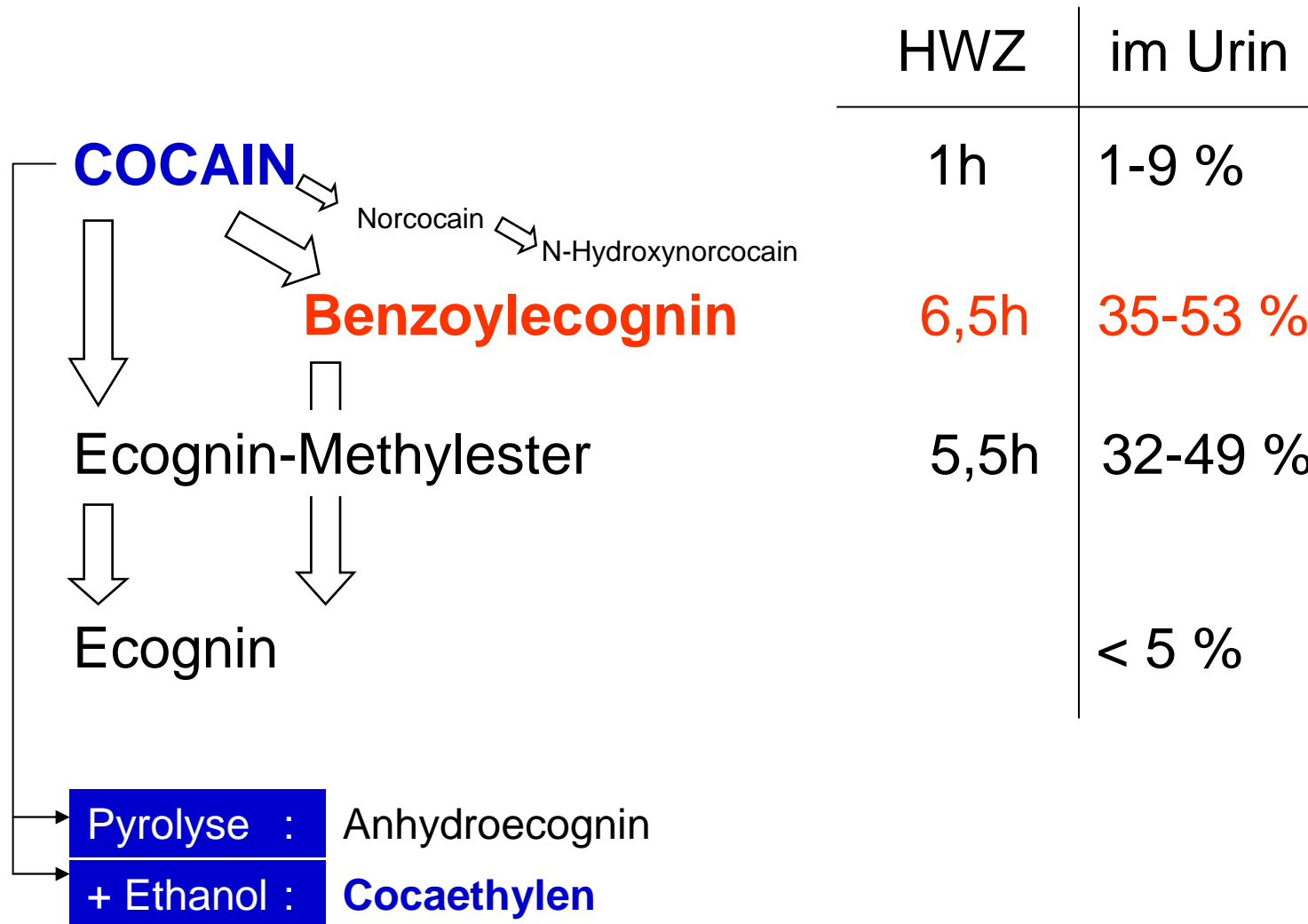
Ergebnisqualität

nicht objektivierbar
nicht digitalisierbar
nicht dokumentierbar

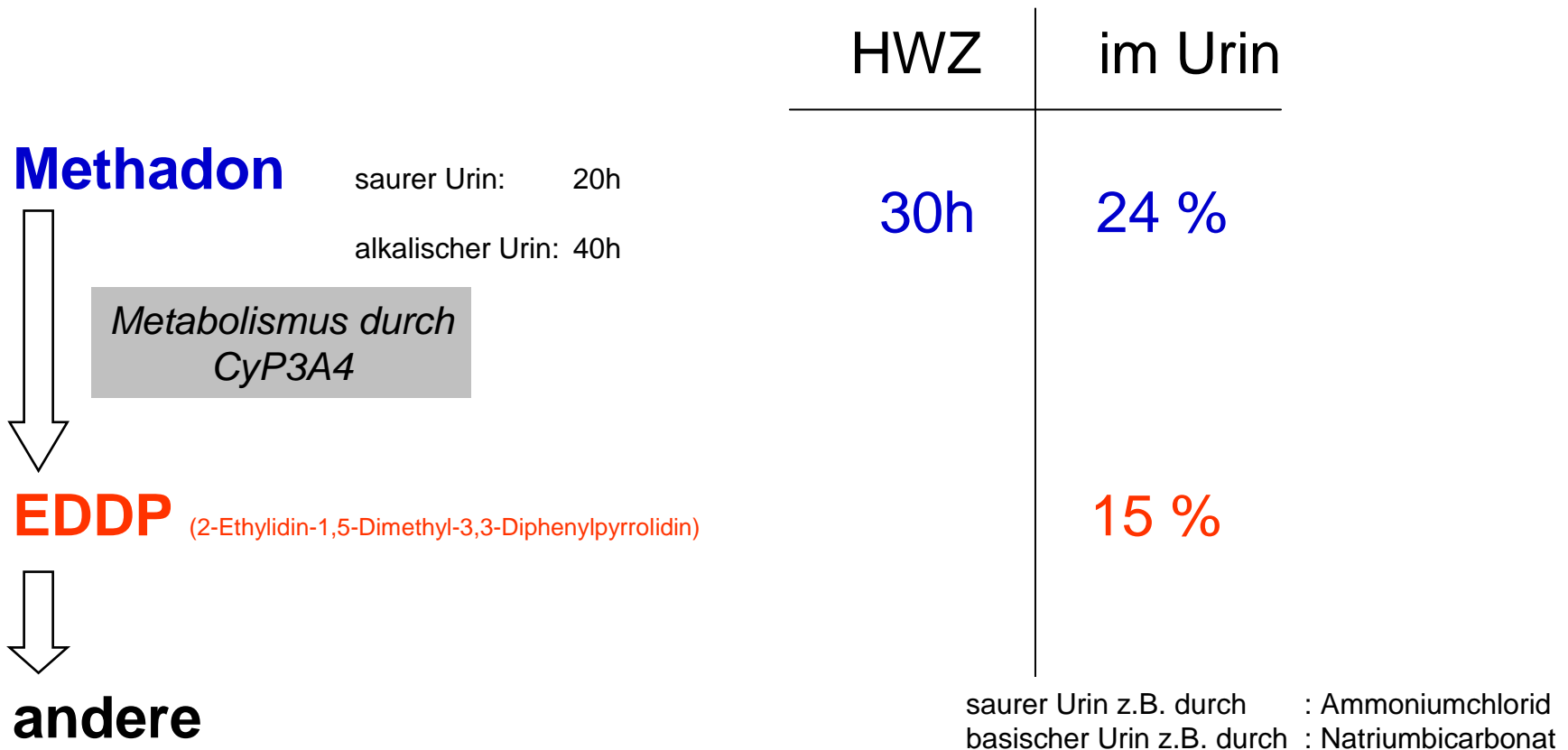
Keine Rückverfolgbarkeit

(„chain of custody“)

Ausscheidung von Cocain im Urin



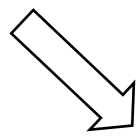
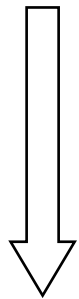
Ausscheidung von Methadon



- Für Compliancetesting im Methadonsubstitutionsprogramm ist der Test auf EDDP zu bevorzugen.
 (Keine Manipulationsmöglichkeit durch Zugabe von Methadon in die Urinprobe)

Ausscheidung von LSD

LSD



2-Oxo-3-Hydroxy-LSD

andere Metabolite

- 13-Hydroxy-LSD
- Nor-LSD
- Desethyl-LSD

HWZ

im Urin

4h

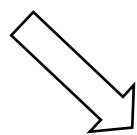
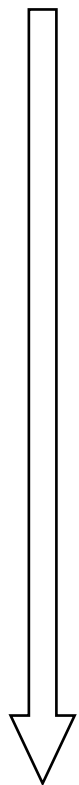
1 %

10h

1,2 %

Ausscheidung von Buprenorphin

Buprenorphin



Norbuprenorphin

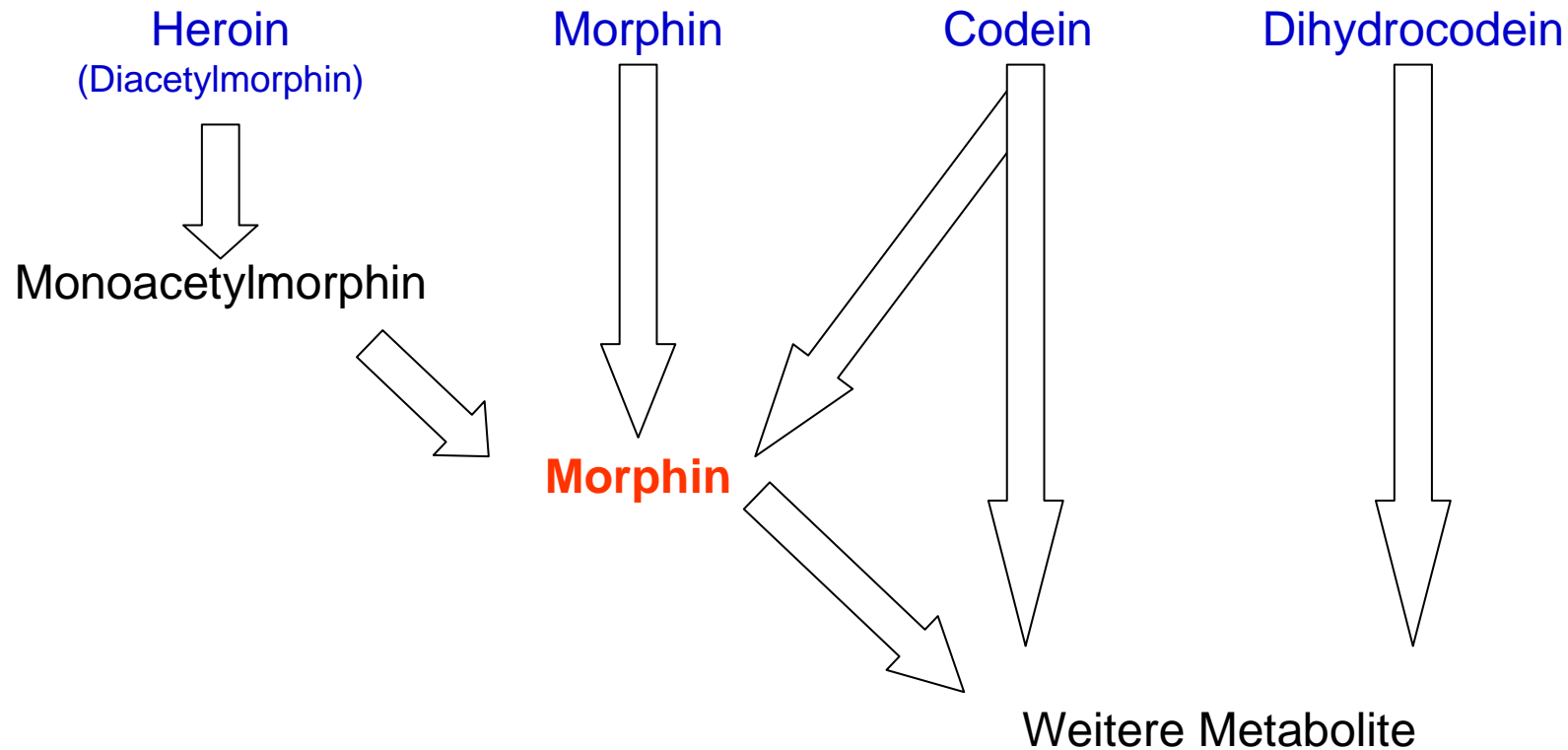


Norbuprenorphin-
glucuronid

**Buprenorphin-
glucuronid**

HWZ	im Urin
25h	1 %
?	} < 20%
?	

Opiate und Opioide



- Morphin und Strukturverwandte reagieren positiv im Opiattest.
- Die synthetischen **Opioide** werden durch den Urinest auf Opiate nicht erfasst: Methadon, Pethidin, Tramadol, Buprenorphin, Fentanyl, Loperamid, Piritramid, Pentazocin u.a.

Die Elimination von Heroin

	HWZ	im Urin
Heroin (Diacetylmorphin) ↓	5 min	0 %
6-Monoacetylmorphin ↓	15 min	1 %
Morphin ↓	5 h	5 %
M-6-Glucuronid , M-3-Glucuronid ↘	8 h	50 %

- Ein Heroinkonsum kann nur durch den Nachweis von 6-Monoacetylmorphin **bewiesen** werden (sehr kleines Zeitfenster).

Das Mohnkuchenexperiment

Code	Kreatinin [g/l]	Morphinäquivalente [ng/ml]	Opiatnachweis im Urin Cut-off 300 ng/ml	
Wehler	0,7	1433	+	
Rohn	0,29	208		-
Lehmann	0,75	512	+	
Riesenklops	1,86	1023	+	
Sheep	0,88	673	+	
Crocodylus	1,71	1356	+	
Koala	1,38	1677	+	
Nina	0,03	1966	+	
Mende	1,37	1495	+	
Dornröschen	0,66	872	+	

- Der Verzehr mohnhaltiger Nahrungsmittel kann zu einem positiven Opiatnachweis führen.

Cannabinoide

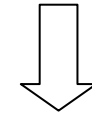
- Cannabinoide: ca. 60 strukturell verwandte Cannabis-Inhaltsstoffe

Hauptkomponenten: Tetrahydrocannabinol (THC)

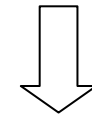
Cannabidiol

Cannabinol

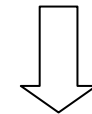
THC



11-Hydroxy- Δ -9-THC








11-Nor- Δ -9-THC-Carbonsäure



11-Nor- Δ -9-THC-Carbonsäure-Glucuronid

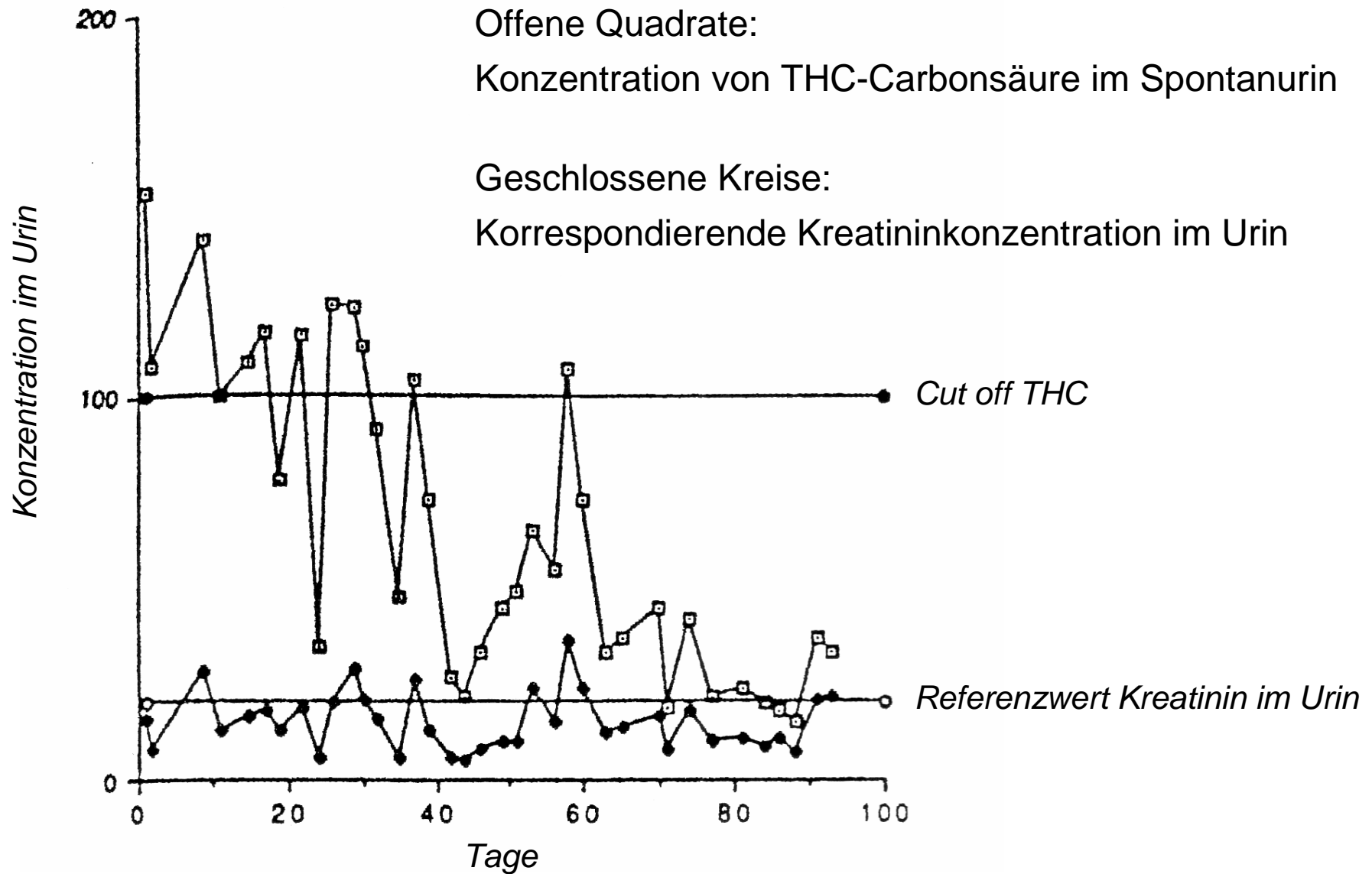
- Weitere Metabolite: 8- α -Hydroxy-THC
8- β -Hydroxy-THC
8- α -11-Hydroxy-TCH
u.a.

Die Elimination von THC

	HWZ	im Urin
Tetrahydrocannabinol (THC) 	3 Tage	0 %
 8-Hydroxy- Δ -9-THC 11-Hydroxy-Δ-9-THC 	4 Tage	0 %
 2'-Hydroxy- Δ -8-THC 11-Nor-Δ-9-THC-COOH 	1 Woche	5 %
11-Nor-Δ-9-THC-COOH-Glucuronid	1 Woche	20 %

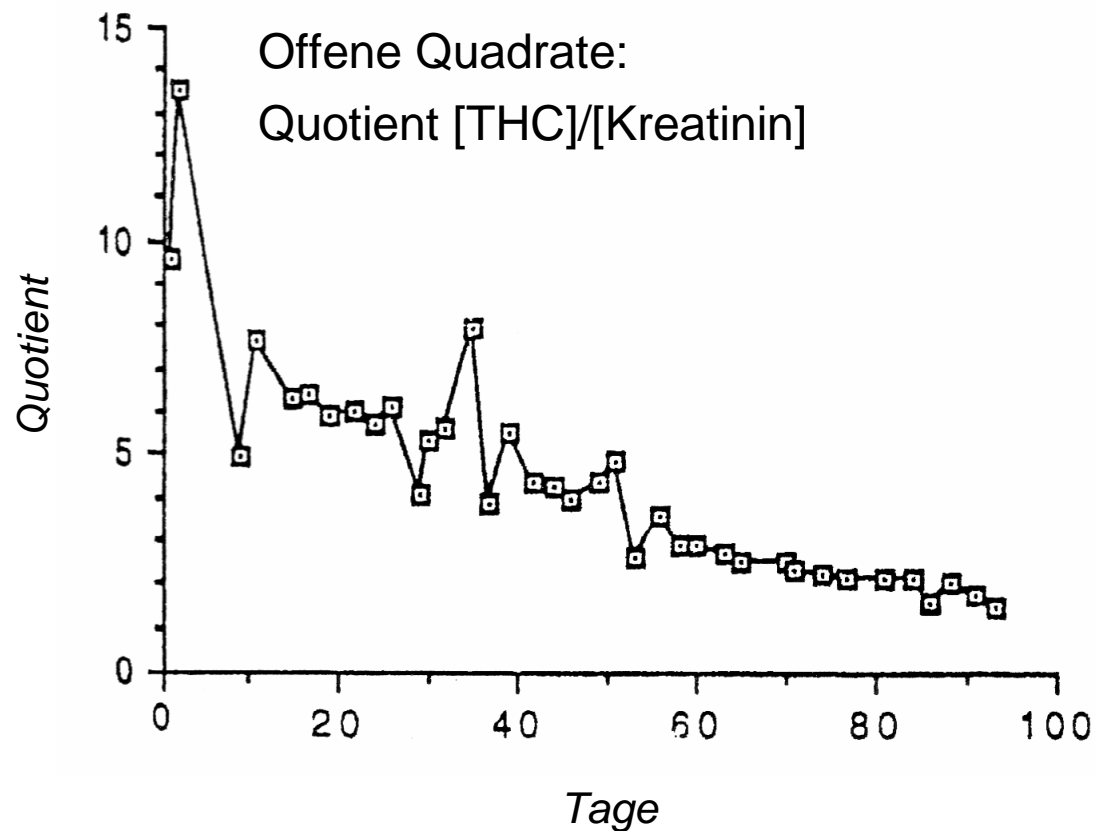
- Häufig vom Einsender gewünscht: Eliminationskinetik
 Probleme: a) Gruppennachweis von THC-Metaboliten
 b) Fehlende Linearität im erforderlichen Konzentrationsbereich

Die Kreatininnormierung am Beispiel von THC



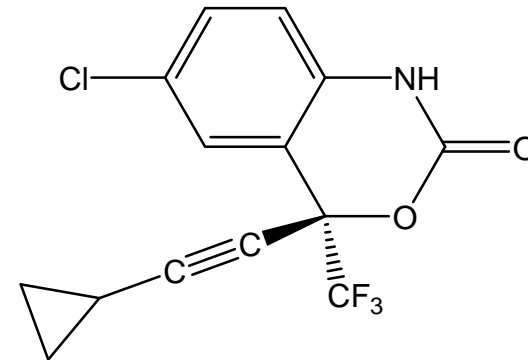
Die Kreatininnormierung am Beispiel von THC

Erst der Bezug der THC-Konzentration auf die Kreatininkonzentration im Urin schließt den Einfluss des schwankenden Wassergehaltes des Urins auf die THC-Konzentration weitgehend aus.



Problem: Falsch positive THC-Werte (CEDIA) durch Efavirenz

- Efavirenz (Sustiva®) ist ein nicht-nukleosidischer Reversetranskriptase Inhibitor und Bestandteil der antiretroviralen HIV-Therapie



- Stark metabolisiert
- Nicht oder nur in Spuren im Urin nachweisbar
- Hauptmetabolit: 8-OH-glucuronid
- Auch direkt an Glucuronsäure gekoppelt vorkommend
- Weitere Metabolite

Ausgewählte Amphetamin-Derivate

Methamphetamin

Amphetamin

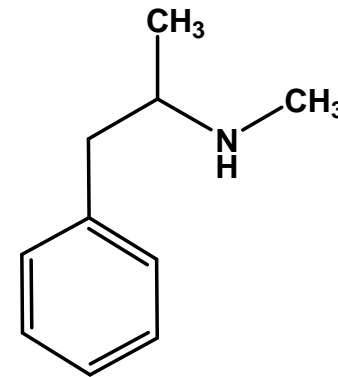
„Ecstasy“

Methylendioxy**m**ethamphetamin (MDMA)

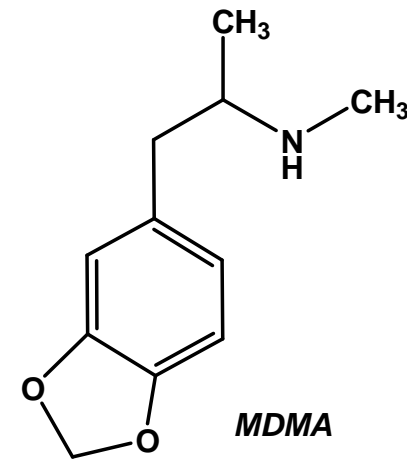
Methylendioxy**a**mphetamin (MDA)

Methylendioxy**e**thylamphetamin (MDE)

Methylen**b**enzodioxolyl**b**utanamin (MBDB)



Methamphetamine



MDMA

- Spezielle Assays für Amphetamine bzw. Ecstasy
- Kombinierte Assays für Amphetamine und Ecstasy (zwei Antikörper)
- Amphetaminassays sind anfällig für unerwünschte Kreuzreaktionen (z. B. weil sich das Katecholamingrundgerüst in vielen Substanzen wiederfindet.)

Pharmakokinetische Parameter Amphetamin(e) / Ecstasy

	f (oral)	Vd [L/kg]	Pl.-EW- Bindung	Unverändert renal [%]	t ½ [h]	Nachweis im Urin
				(pH-abhängig)		
Metamphetamin	70 %	3-4	niedrig	40-45	10-30	1 bis 2 Tage
Amphetamin	100 %	3-5	15-42 %	3-60	4-30	
MDMA				65	8	
MDA				hoch	3-8	
MDE						
HME						
MBDB						
BDB						

Nachweis von Benzodiazepinen

- Grosse Substanzgruppe mit vielen, teilweise identischen Metaboliten und sehr unterschiedlichen therapeutischen Konzentrationsbereichen.
- Eine Erhöhung der Sensitivität gelingt durch Deglucuronidierung der Metabolite in der Urinprobe vor der Analyse.
- Ein Alptraum ist die sichere chromatographische Identifizierung im Urin mit vertretbarem Aufwand.
Die Chromatographie sollte primär aus Blut, Plasma oder Serum erfolgen.

Beispiel: Benzodiazepine (Kinetische Daten)

Benzodiazepin	Ther. Konz. [ng/ml]	HWZ [h]	Benzodiazepin	Ther. Konz. [ng/ml]	HWZ [h]
Alprazolam	5-80	14	Loprazolam	5-150	6,3
Bromazepam	80-170	22	Lorazepam	25-250	15
Brotizolam	5-20	6	Lormetazepam	5-30	12
Chlordiazepoxid	700-2000	16	Medazepam	10-500	12
Clobazam	100-400	18	Metaclazepam	50-200	15
Clonazepam	30-60	23	Midazolam	40-250	1,5
Clotiazepam	100-700	4	Nitrazepam	30-120	28
Demoxepam	300-2800	37	Nordazepam	200-800	48
Diazepam	125-750	35	Oxazepam	200-2000	8
Estazolam	20-100	15	Temazepam	20-500	10
Flunitrazepam	1-15	20	Tetrazepam	300-1000	18
Flurazepam	5-50	2,5	Triazolam	2-20	3

Nachweisdauer von Substanzen im Urin mittels Immunoassays

Substanz	Nachweisbarkeit	Bemerkung
Amphetamine/ Ecstasy	2-3 Tage	Stark vom Urin-pH abhängig
Barbiturate	1-3 Tage	Secobarbital ca. 1 Tag (kurz wirksam)
	0-1 Tag	Phenobarbital 2-3 Wochen (lang wirksam) Hexobarbital, Thiopental (ultrakurz wirksam)
Benzodiazepine	5-7 Tage	z.B. Diazepam nach therapeutischer Einnahme nach Langzeiteinnahme Lormetazepam, Lorazepam, Alprazolam Triazolam
	1-6 Monate	
	ca. 1 Tag	
	0-1 Tag	
Cannabinoide	1-3 Tage	Einmaliger Konsum Mäßiger Konsum (4 x pro Woche) Täglicher Konsum Chronischer Konsum
	5 Tage	
	10 Tage	
	2-3 Monate	
Cocain	2-3 Tage	Bei tägl. Crack-Konsum und Senkung des cut off
	> 3 Tage	
Heroin	< 1 Tag	
LSD	1-2 Tage	
Methadon	2-3 Tage	Vom Urin-pH abhängig
Opiate	1-3 Tage	
Buprenorphin	1 Tag	

Immunologische Drogenkontrolluntersuchungen in unserem Labor

Substanz	Bezugssubstanz	Cut off [ng/ml]	Chromatographische Bestätigung durch
Amphetamine/ Ecstasy	d-Methamphetamin / MDMA	1000	LC/MS-MS
Barbiturate	Secobarbital	200	HPLC, GC, GC/MS
Benzodiazepine	Oxazepam	200	HPLC, GC, GC/MS
Cannabinoide	11-nor- Δ^9 -THC-Carbonsäure	50	GC/MS
Cocain	Benzoylecognin	300	GC/MS
Heroin	Monoacetylmorphin (6-MAM)	10	GC/MS
LSD	LSD	0,5	LC/MS-MS
Methadon	EDDP	100	GC/MS
Opiate	Morphin	300	GC/MS
Buprenorphin	Buprenorphin	5	GC/MS

Nicht immunologische Tests auf Missbrauchssubstanzen im Urin in unserem Labor

- Gammahydroxybuttersäure (GHB) oder „Liquid ecstasy“
- Psilocybin / Psilocin aus „magic mushrooms“
- Atropin und Scopolamin aus Nachtschattenextrakten
- Weitere auf spezielle Anforderung

Was immunologische Drogenkontrolluntersuchungen nicht leisten können:

- Die konsumierte **Dosis** der Missbrauchssubstanz feststellen
- Die Art der **Applikation** (geschluckt, gespritzt, geraucht etc.) feststellen
- Den **Zeitpunkt** des Konsums feststellen
- Die individuelle **Wirkung** der Substanz beim einzelnen Probanden bewerten.

Drogentests im Justizvollzug – Anforderungen an Materialgewinnung und Interpretation

- Identität des Urins sicherstellen!
- Bei Bewertung des Ergebnisses schwankenden Wassergehalt des Urins berücksichtigen (Kreatininkonzentration)!
- Alle Immunoassays für Drogentests sind qualitativ;
Entscheidungsgrenze ist der testspezifische cut off.
- Alle Immunoassays können falsch positive Ergebnisse liefern.
- Rechtsrelevante Analyseergebnisse erfordern immer eine chromatographische Bestätigungsanalyse (zumeist GC/MS oder LC/MS).
- Quantitative Analysen einzelner Markersubstanzen, Darstellung von Metabolitenmustern und kinetische Bewertungen erfordern eine chromatographische Analyse.