

Thomas Keller<sup>1</sup>

# Nachweis von Drogen- und Medikamentenwirkstoffklassen mittels Immunoassays

**Trotz rasanter Entwicklungen in der apparativen Analytik belegen immunologische Methoden zur Untersuchung von Drogen- und Medikamentenwirkstoffklassen aus biologischen Matrices weltweit immer noch unumstritten einer der vordersten Plätze unter den Screeningverfahren. Im Bereich der forensisch- und klinisch-toxikologischen Analytik existieren Drogen bzw. Medikamentenwirkstoffklassen, aber auch einzelne Substanzen, auf deren Vorhandensein oder Abwesenheit routinemässig im Rahmen von Übersichtsanalysen untersucht werden muss.**

Von besonders forensisch-toxikologischer Relevanz sind folgende Drogen bzw. Medikamentenwirkstoffklassen:

- Amphetamine/Methamphetamine, Barbiturate (nur noch selten von Bedeutung)
- Benzodiazepine, Buprenorphine, Cannabinoide, GHB («Liquid Ecstasy»)
- Kokain bzw. Kokain-Metabolite, LSD, Methadon/EDDP, Opiate, Phencyclidin (von geringerer Bedeutung in Europa)
- Substanzen aus der Klasse der trizyklischen Antidepressiva

## Anwendungsgebiete

Die Einsatzgebiete immunologischer Untersuchungen generell sind vor allem im Bereich der klinisch-toxikologischen Analytik wie auch in der forensisch-toxikologischen Analytik zu sehen. Die klinisch-toxikologische Analytik erstreckt sich hier auf Untersuchungen beispielsweise im Bereich der Notfallanalytik.

Im Bereich der Abhängigkeitsüberwachung sind Untersuchungen im Rahmen von Suchtkontrollen und Suchttherapien erforderlich. Psychiatrische Kliniken, Drogenkliniken sowie Krankenstationen von Justizvollzugsanstalten müssen bei Verdacht eines erfolgten Drogenkonsums Untersuchungen durchführen. Zudem ist die analytische Überwachung des Missgebrauchs im Rahmen der Methadon-Therapie von Bedeutung.

Weiter ist bei medizinisch-psychologischen Untersuchungen von Patienten, denen aufgrund eines Drogenmissbrauches die Fahrerlaubnis entzogen wurde, ein Nachweis der Drogenfreiheit für eine positive Beurteilung und Prognose von Bedeutung.

Im klinischen Sektor bestehen ebenfalls Anwendungsbereiche für den Einsatz von Immunoassays. Hier ist der Nach-

weis von Medikamentenwirkstoffklassen bzw. Drogen im Zusammenhang mit der Sicherstellung der Absenz von Fremdstoffen bei Transplantaten und Transplantationspatienten, der Feststellung des Hirntodes, der Überprüfung von Blutspendern, der Kontrolle während der Schwangerschaft und der Plazentapassage von Drogen bei Neugeborenen, als Einsatzgebiet zu nennen.

Im Bereich der forensisch-toxikologischen Analytik ist an den verkehrsmedizinischen Sektor zu denken, wobei die Teilnahme am öffentlichen Strassenverkehr unter dem Einfluss von Fremdstoffen analytisch abzuklären und juristisch zu bewerten ist.

Immunologische Untersuchungen werden weiter im Verlauf von forensisch-toxikologischen Untersuchungen nach Diebstahl, Raub und Körperverletzung, aber auch bei Kapitalverbrechen wie Totschlag und Mord angewendet. In diesem Bereich erhaltene positive immunologische Analysenergebnisse müssen immer mit einem zweiten, von der apparativen Immunologie unabhängigen Analyseverfahren wie z.B. Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC), HPLC gekoppelt mit (Tandem)-Massenspektrometrie (LC-MS/MS) oder Gaschromatographie/Massenspektrometrie (GC/MS), gegenbestätigt und in Form eines Gutachtens für Polizei und Justiz niedergelegt werden.

Vermehrt sind immunologische Untersuchungen im Rahmen arbeitsmedizinischer Fragestellungen zu sehen. Diese betreffen z.B. die Überwachung der Drogenfreiheit am Arbeitsplatz (Workplace Drug-Testing). Es steht vor allem die Arbeitssicherheit in Vordergrund.

Einen weiteren Bereich betreffen versicherungsrechtliche Fragen. Hier muss beispielsweise vor Abschluss einer Lebensversicherung der Verzicht auf Medikamente und Drogen nachgewiesen werden.

Zu guter Letzt darf der Einsatz von Immunoassays für den Nachweis von Drogen im Bereich der Zollfandung, Militär und Sport nicht vergessen werden.

## Grundlage der Immunoassays

Die Grundlage aller apparativ-immunologischer Immunoassays, wie auch der käuflich zu erwerbenden Schnelltestsysteme, ist die Antikörper-Antigen-Reaktion. Antikörper – auch als Gammaglobuline oder Immunglobuline bezeichnet – sind die Antwort unseres Immunsystems auf das Eindringen körperfremder Substanzen in den Organismus. Die Antikörper werden gebildet, um diese körperfremden Substanzen zu binden und unwirksam zu machen. Die Bildung von Antikörpern wird nur dann ausgelöst, wenn das eingedrungene Molekül eine Mindestgrösse besitzt. Nur bei hochmolekularen Substanzen wird der Organismus mit der Bildung von Antikörpern beginnen. Die hochmolekularen Substanzen werden auch als Antigene bezeichnet. Antikörper sind ausserhalb des lebenden Organismus in der Lage, Antigene spezifisch zu binden. Dies macht man sich bei immunologischen Testsystemen zu eigen. Solche Tests verwenden meist monoklonale Antikörper, die in Zellkulturen produziert werden. Bei der Erzeugung von Antikörpern gegen niedermolekulare Substanzen wie Drogen und Medikamentenwirkstoffe, bedient man sich grosser Trägermoleküle wie z.B. BSA (Bovine Serum Albumin). An die Trägermoleküle werden diese niedermolekularen Substanzen gekoppelt, um im Versuchstier immunogen zu wirken. Sobald die Antikörper einmal gebildet sind, reagieren sie auch auf die niedermolekulare Substanz allein.

## Technik des Nachweises

Die Technik eines immunochemischen Nachweises kann sehr unterschiedlich

<sup>1</sup> Prof. Dr. Thomas Keller, Chemisch-Toxikologisches Labor, Gerichtsmedizin, Universität Salzburg

sein. Meist werden sogenannte «kompetitive Immunoassays» verwendet, bei denen Antigene in der zu bestimmenden Probe mit markierten Antigenen aus dem Reagenz um eine beschränkte Menge an Antikörpern konkurrieren. Sind wenige Antigene in der zu bestimmenden Probe vorhanden, werden (da die Antikörper-Antigen-Komplexbildung eine Gleichgewichtsreaktion ist) viele markierte Antigene gebunden, und nur eine geringe Zahl markierter Antigene bleibt frei in Lösung. Um Rückschlüsse auf die Konzentration einer Substanz in einer Probe zu ziehen, kann nun prinzipiell entweder die Menge an gebundenem oder die Menge an freiem markiertem Antigen bestimmt werden. Je nach verwendetem Markierungs- und Messverfahren ist hierzu ein Trennschritt erforderlich. Wird eine Trennung der gebundenen von den freien Antigenen durchgeführt, handelt es sich um einen «heterogenen Immunoassay». Beim «homogenen Immunoassay» hingegen ist kein Trennschritt erforderlich. Die Praktikabilität dieser Methode ist somit im Vergleich zum heterogenen Immunoassay beträchtlich höher und in den Laboren somit auch beliebter. Beispiele für homogene immunologische Verfahren sind der Enzymimmunoassay «EMIT» (Enzyme-Multiplied-Immunoassay-Technique), der Fluoreszenz-Polarization-Immuno-Assay (FPIA) und eine der meistverwendeten immunologischen Technologien überhaupt, der CEDIA-Test (Cloned-Enzyme-Donor-ImmunoAssay). Beim CEDIA-Test wurde die rekombinante DNA-Technologie zur Anwendung gebracht. Grundlage der CEDIA-Technologie ist das Enzym  $\beta$ -Galaktosidase, das gentechnisch in zwei inaktive Fragmente gespalten wird. Nach Zugabe des ersten Fragments (Enzym-Donor, ED) zu einer Lösung mit einem zweiten Fragment (Enzym-Akzeptor, EA) rekombinieren diese spontan zu einem intakten Enzym, das im Test ein Substrat umsetzt, dessen Farbänderung spektralfotometrisch verfolgt werden kann.

In der Probe konkurriert das freie Antigen dann mit dem an ein inaktives Fragment (ED) gekoppelte Antigen um den Antikörper. Der Komplex, der aus einer ED-Antigen-Antikörper-Verbindung besteht, ist nicht mehr in der Lage, die Rekombination der inaktiven Fragmente durchzuführen. Die gebildete Menge an  $\beta$ -Galaktosidase korreliert mit den in der

Probe vorhandenen freien Antigenen (Drogen).

Der Einsatz von Einzel- und Multi-Tauchtestsystemen wie auch -Kassetten-systemen findet z.B. im niedergelassenen ärztlichen Bereich und bei den Exekutiv- und Justizbehörden weit verbreitete Anwendung. Die auf dem Markt befindlichen Systeme sind zum Screenen verschiedener Drogen- und/oder Medikamentenwirkstoffklassen erhältlich und basieren auf dem Prinzip der GLORIA-Technologie (Gold-Labeled-Optical-read-RapidImmuno-Assay).

### Roadside-Streifentestsysteme

Fahrzeuglenker unter Cannabiseinfluss zu erkennen und vom Strassenverkehr fernzuhalten, ist nicht nur ein Problem, dem sich die Exekutive gegenüber sieht. Einfach zu handhabende, immunologische «Roadside»-Streifentestsysteme zur Detektion von Cannabinoiden im Urin stellen nach wie vor ein unverzichtbares Hilfsmittel dar, wenn ein Verdachtsmoment bei Fahrten unter Drogeneinfluss erhärtet werden soll.

Durch z.B. den Einsatz eines Drogenschnelltestsystems mit zwei Schwellenwerten, einmal mit einem Cut-off von 50 ng Cannabinoidäquivalente/ml Urin sowie eines neuen, gezielt angehobenen Schwellenwertes (jetzt jedoch bezogen auf THCCOOH-Glucuronid und nicht wie üblich auf THCCOOH), kann das Erkennen eines aktuellen Konsumverhaltens deutlich verbessert werden, ohne einen länger zurückliegenden Cannabis-konsum zu übersehen.

### Kreuzreaktivität

Mit wenigen Ausnahmen beziehen sich die heute verfügbaren immunologischen Testsysteme auf Drogen- bzw. Medikamentenwirkstoffklassen. Die entsprechenden Antikörper erkennen somit auch strukturell ähnliche Verbindungen. Dies erklärt das Phänomen der Kreuzreaktivität. Über mögliche Kreuzreaktivitäten entsprechender Substanzen mit dem angewandten Test hat sich der Anwender über Informationsmaterial bzw. Fachliteratur kundig machen. Selbst bei einer niedrigen Kreuzreaktivität muss im Falle einer fulminanten Überdosierung mit einem entsprechenden falsch-positiven immunologischen Messergebnis gerechnet werden.

Überdies ist bei der Anwendung immun-

## Détection de classes de drogues et de médicaments par dosages immunologiques

Malgré les développements fulgurants dans le domaine de l'analyse instrumentale, les méthodes immunologiques destinées à rechercher des classes de drogues et de médicaments à partir de matrices biologiques restent toujours incontestablement l'un des procédés de dépistage privilégiés à l'échelle mondiale. Dans le domaine de l'analyse forensique et de l'analyse toxicologique clinique, la présence ou l'absence de certaines classes de drogues et de médicaments, mais également de certaines substances individuelles, doit être vérifiée systématiquement dans le cadre des analyses de dépistage. À cette occasion, le personnel de laboratoire, en tant qu'utilisateur de l'immunologie instrumentale automatisée, devrait néanmoins se rendre compte des possibilités et limites d'une telle technique. Il en va de même pour le non-spécialiste (officier de police, médecin, etc.), qui est amené à utiliser des tests individuels en bandelette et/ou des cassettes multitestés dans le cadre de ses fonctions.

chemischer Testverfahren zu bedenken, dass auch bestimmte Wirksubstanzen, die sich strukturell von der zu untersuchenden Substanzklasse dramatisch unterscheiden, das Drogenscreening stark beeinflussen, d.h. zu falsch-positiven Befunden führen können. Hierzu wird schon teilweise in den entsprechenden Fachinformationen darauf hingewiesen.

Korrespondenz:  
thomas.keller@sbg.ac.at

Dieser Artikel ist eine gekürzte Fassung. Die vollständige Version, inkl. Literaturliste, ist als PDF zu finden unter: [www.sulm.ch/pipette](http://www.sulm.ch/pipette)

### ETH-Team entwickelt Schnelltests basierend auf Infrarotlaser

(dm) Die aktuell verfügbaren Testsysteme basieren i.d.R. auf dem Einsatz von Antikörpern und Fluoreszenzfarbstoffen. An der ETH Zürich forscht man zurzeit mit Infrarotlasern. Die im Speichel enthaltenen Substanzen, auf einen Kristall aufgetragen, absorbieren unterschiedliche Wellenlängen des Lichts. Diese spezifischen Wellenlängenmuster ermöglichen Rückschlüsse auf die Substanzen. Die Projektbeschreibung ist zu finden unter:  
[www.lss.ethz.ch/research/projects/cocaine](http://www.lss.ethz.ch/research/projects/cocaine)