

G. Sander¹
S. Saadat²
W. Haase³

Nutzwert von Screeningmethoden für den Nachweis von Buprenorphin in Urinkontrollen

Utility of Screening Methods for Evidence of Buprenorphine in Urine Controls

Zusammenfassung

Im klinischen Alltag einer Station für die Entzugsbehandlung Opiatabhängiger in einer Klinik der Pflichtversorgung besteht die Notwendigkeit, bei allen Patientinnen und Patienten den Verlauf der Drogenentgiftung zu dokumentieren. Dazu werden die Abbauprodukte der konsumierten Drogen im Urin routinemäßig durch einen handelsüblichen sensitiven Schnelltest nachgewiesen. Nachdem inzwischen Buprenorphin sowohl als Medikament in der Substitution als auch in der medikamentösen Behandlung im Entzug zur Routine geworden ist, besteht die Notwendigkeit, auch diese Substanz im Urin nachweisen zu können. In der vorliegenden Untersuchung wurden an klinischen Samples anhand von nativen Urinen die Präzision und die Sensitivität von immunochemischen Tests untersucht. Damit sollen die Möglichkeiten des praktischen Einsatzes eines BUP-Urinschnelltests zur Therapieüberwachung überprüft werden.

Schlüsselwörter

Drogentest · Urinschnelltest · Opiatentzug · Buprenorphin · Vor-test · Drogenvortest

Abstract

In the routine setting of a hospital ward for detoxification and treatment of heroin addiction it is necessary to control and document the detoxification progress. For that reason the patient's urine is routinely screened with commercially available rapid screening tests for the use of drugs of abuse and their metabolites. Since Buprenorphine is nowadays not only used for therapeutic reasons but also routinely in the substitution treatment of heroin addiction, the need for a rapid screening test for buprenorphine became necessary. In this study the precision and sensitivity of a wide range of immunochemical tests for buprenorphine were evaluated with the help of relevant clinical samples of different groups of patients. In particular we evaluated the practical aspects of the rapid buprenorphine tests for controlling the therapy progress.

Key words

Drugs-of-abuse test · rapid urine test · opiate detoxification · buprenorphine · screening test · screening test for drugs of abuse

Einleitung

Auf einer Station für die qualifizierte Akutbehandlung Drogenabhängiger werden Opiatabhängige nach den Behandlungsstandards der medizinischen Leitlinien entzogen. Die Station ist Bestandteil des umfassenden Behandlungsangebotes des Zentrums Suchtmedizin des für die regionale Pflichtversor-

gung für einen Sektor der Stadt und Region Hannover zuständigen Klinikum Wahrendorff. Von den ca. 800 pro Jahr auf der Station behandelten Patient/Innen haben 80–100% eine weitere psychiatrische Diagnose.

Die Patient/Innen haben im Regelfall einen polytoxikomanen Suchtmittelkonsum. Im Vordergrund steht dabei das Opiat, Heroin

Institutsangaben

¹ Klinikum Wahrendorff, Sehnde

² MAHSAN Diagnostika GmbH, Reinbek

³ MEDILYS GmbH, Hamburg

Korrespondenzadresse

Dr. med. Greif Sander · Leitender Arzt, Zentrum Suchtmedizin, Klinikum Wahrendorff GmbH · Rud.-Wahrendorff-Str. 22 · 31319 Sehnde · E-mail: dr.sander@wahrendorff.de

Bibliografie

Suchttherapie 2006; 7: 29–32 © Georg Thieme Verlag KG Stuttgart · New York
DOI 10.1055/s-2006-926529
ISSN 1439-9903

beim Konsum in der Szene und D,L-Methadonhydrochlorid (Methadon) oder Levomethadon (L-Polamidon) in der ärztlichen Substitutionsbehandlung. Zusätzlich werden regelmäßig Alkohol, Benzodiazepine, Cannabis und Kokain konsumiert. Seit der Zulassung von Buprenorphin (Subutex, im Weiteren BUP) zur Substitutionsbehandlung im Jahre 2000 wird dieses Medikament auf der Station neben Methadon und Polamidon gleichwertig zur medikamentösen Entzugsbehandlung und zur Substitution eingesetzt. Zur Therapieüberwachung, zur Dokumentation des Entgiftungsverlaufs sowie zur Kontrolle etwaigen unerlaubten Drogenkonsums während der Behandlung wird dazu ein handelsüblicher Urinschnelltest (Streifenfest) eingesetzt. Bei der stationären Aufnahme des Patienten, routinemäßig 2 bis 3-mal pro Woche und bei Bedarf werden Patientenerine (im Weiteren UK) auf 6 Parameter (Benzodiazepine, Kokain, Methadon, Methamphetamin, Opiate, THC) gescreent. Eine Urinuntersuchung im Labor findet nicht routinemäßig statt. Der inzwischen auf den Entzugsstationen für Opiatabhängige parallel zur Entstehung eines illegalen Konsumangebotes für BUP auf der Szene entstandene verdeckte BUP-Konsum wurde bislang dem Behandlungsteam nur zufällig durch Berichte von Patient/Innen bekannt. BUP im Urin konnte nur durch eine Laborspezialuntersuchung festgestellt werden, was damit nicht den klinischen Vorgaben an Verfügbarkeit und Wirtschaftlichkeit entspricht. Gewünscht wird eine Screeningmethode, wie sie bereits gut etabliert als Urintests für den Nachweis anderer Suchtmittel existiert.

In den letzten Jahren wurden 1 laborärztlicher immunochemischer Test und für den klinischen Bereich 5 immunochemische Schnelltests entwickelt. Das Problem der BUP-Analytik liegt bei dem für Screeningmethoden niedrigen Cutoff von ca. 0,5 ng BUP pro ml Urin. Hiermit liegt der Cutoff nahe an der untersten Nachweisgrenze. Bislang lagen die niedrigsten Cutoff-Werte für BUP-Schnelltests bei über 20 ng/ml. Je niedriger der Cutoff liegt, umso schwieriger wird es, eine akzeptable Präzision zu erreichen. Mit einem niedrigen Cutoff soll eine hohe diagnostische Sensitivität, also wenige falsch negative Ergebnisse, und eine hohe diagnostische Spezifität, also wenige falsch positive Ergebnisse, erreicht werden.

Für den klinischen Gebrauch qua Kosten und Verfügbarkeit nutzbare BUP-Urintests sind erst seit kurzem verfügbar, obwohl die Gaschromatographie kombiniert mit Massen-Spektrometrie (im Weiteren GC/MS) als „Gold-Standard“ und Radio-ImmunoAssay (RIA), Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie (HPLC) und enzymimmunochemische Assays auf Mikrotiterplattenbasis (EIA) im Labor etabliert sind. GC/MS dient aufgrund der hervorragenden unteren Nachweisgrenze und der eindeutigen Ergebnisse als Referenz für alle anderen Tests. Diese Methoden sind jedoch für den klinischen Alltag nicht geeignet, da sie aufwändig, relativ langsam und mit entsprechenden Kosten verbunden sind.

Material und Methode

In die vorliegende Untersuchung wurden im Frühsommer 2005 konsekutiv 100 Urine von der Drogenentzugstation des Klinikums Wahrenndorff in die Untersuchung aufgenommen. Das

Wahrenndorff-Sample stammt von opiatabhängigen Patient/Innen, die sowohl mit BUP entzogen wurden als auch auf BUP zur Substitution eingestellt wurden. Die polytoxikomane Klientel hatte weitere Drogen konsumiert als auch psychiatrische und somatische Begleiterkrankungen, die teilweise medikamentös behandelt wurden. Die UK wurden konsekutiv ohne Berücksichtigung des Konsums anderer Substanzen oder medikamentöser Behandlung in die Untersuchung einbezogen. Einschlusskriterien waren lediglich eine BUP-Dosis von 0,4–3 mg sowie eine 1 bis 3 Tage zurückliegende letzte BUP-Gabe. Diese Einschlusskriterien sollten ein dem klinischen Alltag auf einer Drogenentzugsstation entsprechendes Klientel adäquat abbilden und somit den alltäglichen klinischen Einsatzbedingungen für einen Urinschnelltest entsprechen. Die 140 UK des Medilys-Samples wurden im Zeitraum vom Herbst 2004 bis Frühjahr 2005 gesammelt und stammen aus der Drogenentzugsstation des Hamburger Landesbetriebs Krankenhäuser und aus dem Heroinsubstitutionsprogramm in Hamburg. Alle Proben wurden bis zur Messung maximal 3 Wochen bei Raumtemperatur, danach bei 2–8 °C und, wenn mehr als 2 Wochen bis zur nächsten Analyse vergehen sollten, bei –18 °C aufbewahrt.

Alle immunochemischen Tests wurden im Medilys-Labor durchgeführt. Verwendet wurde erstens der CEDIA-BUP-Test (Cloned Enzyme-Donor ImmunoAssay) der Firma Microgenics, Passau (im Weiteren CEDIA). Die Messung erfolgt in einem Inkubationsschritt nach Zugabe der unverdünnten Urinproben und der Reagenzien in einem Olympus AU 400 Autoanalyzer. Der Messbereich liegt zwischen 0 und 100 ng/ml. Verwendet wurde zweitens der Inspec-BUP-EIA der Firma Mahsan Diagnostika, Reinbek (im Weiteren IN-SPEC), der auf der Mikrotiterplatten-Technologie basiert. Die Messung erfolgt in zwei Inkubationsschritten, 2 Waschschritten und einer instrumentellen Auswertung mit einem Tecan-Mikrotiterplatten-Reader. Die Urine werden unverdünnt eingesetzt und der Messbereich liegt zwischen 0 und 5 ng/ml. Drittens wurden folgende Urinschnelltests untersucht: der Cozart-BUP-Schnelltest der Firma Cozart Biosciences, Abingdon/England (im Weiteren COZART), der Drugscreen-BUP-Schnelltest der Firma von Minden, Moers (im Weiteren DRUGSCREEN), der Ferle-BUP-Schnelltest der Firma Ferle, Kopenhagen/Dänemark (im Weiteren FERLE) und der Mahsan-BUP-Schnelltest von der Firma MAHSAN Diagnostika, Reinbek (im Weiteren MAHSAN). Die BUP-Schnelltests funktionieren nach demselben immunochemischen und -chemischen Prinzip. Nach Zugabe von 2 bis 5 Tropfen Urin vermischt sich der Urin mit den in der Testkassette befindlichen Reagenzien und die Flüssigkeit wandert den Nitrozellulose-Teststreifen empor. Wenn der Urin kein BUP enthält, bilden sich eine Test- und eine Kontrolllinie aus. Wenn BUP enthalten ist, bildet sich nur die Kontrolllinie aus, da das native BUP die Anbindung des Colloidal-Gold-markierten Antikörpers verhindert. Die Tests müssen spätestens nach 10 Minuten abgelesen werden. Eine noch so schwache Testlinie wird als negatives Ergebnis gewertet. Die GC/MS-Referenzuntersuchungen wurden in der Arztpraxis für Medizinische Mikrobiologie in Dessau durchgeführt. Die Aufarbeitung der Urinproben für den GC/MS beinhaltet die Messung der gesamten BUP- und Nor-Buprenorphin-Fraktion, indem der Glucuronidanteil enzymatisch mit zugefügter Glucuronidase abgespalten wird. Als Sensitivität wird 0,5 ng/ml und für Quantifizierung 1,5 ng/ml angegeben.

Ergebnisse

Anhand einer ersten Serienuntersuchung mit 54 UK des Medilys-Samples wurden alle verfügbaren immunochemischen Tests auf ausreichende Sensitivität gesichtet. Da die UK für die Untersuchung nicht nach Medikation oder Therapie selektiert wurden, könnten Störungen des Messergebnisses durch im Urin enthaltene andere Drogen oder Medikamente auftreten. Die UK wurden zuerst mit CEDIA und INSPEC gescreent. Da es Ziel dieser Arbeit war, vor allem im kritischen unteren Bereich die Präzision zu ermitteln, wurden UK bevorzugt ausgewählt, deren CEDIA-Messwerte etwa zwischen 2 und 10 ng/ml lagen. Durch diese Vorauswahl sind die knapp positiven UK überrepräsentiert und geben ein kritischeres Bild der Präzision, als im Routinebetrieb mit vielen negativen und wenigen positiven UK normalerweise zu beobachten ist. In 6 der 54 Urine war CEDIA positiv, aber INSPEC und die Schnelltests negativ. 5 der 6 Urine wurden mit GC/MS nachuntersucht und waren negativ. 3 weitere Fälle, bei denen CEDIA und INSPEC positiv, aber alle Schnelltests negativ waren, wurden mit GC/MS nachuntersucht und enthielten 0, 1,2 und 2,7 ng/ml BUP. Daraus ergibt sich 1 falsch positives Ergebnis und somit 98% als Präzision für den INSPEC. Der CEDIA produzierte 6 falsch positive und keine falsch negativen Ergebnisse (Präzision von 89%), was als Zeichen für das Erreichen der untersten Nachweisgrenze gewertet wird. Der FERLE zeigte 8 falsch negative Ergebnisse (Präzision 85%), der MAHSAN 7 falsch negative (Präzision 87%) und der Quickscreen-Schnelltest 5 falsch negative (Präzision von 91%). Diese Schnelltests erbrachten keine falsch positiven Ergebnisse. Der COZART erbrachte 17 falsch negative Ergebnisse (Präzision 69%) und der DRUGSCREEN ergab 15 falsch negative (Präzision 76%). Die beiden letzteren Tests wurden daraufhin aufgrund der im Verhältnis zu den drei anderen Schnelltests geringen Präzision nicht weiter in die Untersuchung miteinbezogen.

Anhand einer zweiten Serienuntersuchung mit weiteren 86 UK des Medilys-Samples wurden die 4 immunochemischen Tests mit ausreichender Sensitivität (CEDIA, INSPEC, FERLE-Schnelltest und MAHSAN-Schnelltest) weiter untersucht. Bei dieser Serie war der Test mit der höchsten Präzision (89% bei einem falsch negativen, 2 falsch positiven Ergebnissen) erneut der INSPEC. Der CEDIA hatte eine Präzision von 82% bei 0 falsch negativen und 5 falsch positiven Ergebnissen. Der FERLE zeigte eine Präzision von 86% bei 3 falsch negativen und 1 falsch positiven. Der MAHSAN hatte eine Präzision 79% mit 3 falsch negativen und 3 falsch positiven Ergebnissen. In dieser Serie wurden 28 Ergebnisse mit GC/MS bestätigt. Im Vergleich zum sensitivsten immunochemischen Test, dem INSPEC, war die Präzision des CEDIA 88%, des FERLE 93% und des MAHSAN 92%. Grundsätzlich eignen sich der CEDIA für den Laborarzt wegen der schnellen Methodik und des niedrigeren Cutoffs von 2 ng/ml und die beiden Schnelltests für den klinischen Alltag. Die Schnelltests sind mit einem Cutoff von 5 ng/ml weniger sensitiv, dafür haben sie weniger falsch positive Ergebnisse, was wegen der fehlenden Möglichkeit der Bestätigung in der Klinik von Vorteil ist.

Für den klinischen Alltag ist die Frage relevant, ob eine niedrig dosierte BUP-Medikation ($\leq 0,4$ mg Subutex) oder ein nicht erlaubter Beikonsum mithilfe eines Schnelltests im Urin nachgewiesen werden kann. Weiter stellt sich die Frage, wie lange

nach Einnahme ein Nachweis möglich ist. Diese Fragen wurden mit den 100 UK des Klinikum Wahrendorff-Samples untersucht, die von Patienten stammen, die ihre letzte BUP-Medikation 1 bis 4 Tage vor Abgabe des Urins erhalten hatten. Bei diesem Sample wurde auf eine GC/MS-Bestätigung verzichtet und der INSPEC wurde als sensitivster immunochemischer Test als Bezugspunkt eingesetzt. Der INSPEC war in 2 Fällen negativ, sodass ein 98% sicherer Nachweis einer BUP-Einnahme mit dieser Methode nach 1 bis 4 Tagen auch bei niedrigster Medikation möglich ist. Die anderen immunochemischen Tests hatten aufgrund des höheren Cutoffs eine niedrigere Präzision: CEDIA erbrachte 6 (Präzision 94%), der FERLE 16 (Präzision 84%) und der MAHSAN 15 (Präzision 85%) falsch negative Ergebnisse. Wenn BUP mindestens 4 Tage nicht gegeben wurde, kam es bei den Schnelltests zu einer Häufung der falsch negativen Ergebnisse. Wenn die BUP-Medikation von $\geq 0,4$ mg vor 1 bis 3 Tagen zuletzt gegeben wurde, waren die immunochemischen Tests positiv mit Ausnahme zweier Fälle bei dem FERLE.

Diskussion

Ein klinisch brauchbarer immunochemischer Test zur Untersuchung von Patientenurinen auf BUP sollte einen möglichst niedrigen Cutoff, also eine niedrige Nachweisgrenze erreichen können. Der in der hier vorliegenden Untersuchung erreichte Cutoff der Schnelltests von FERLE und MAHSAN von 5 ng/ml ist niedriger als es bisher bei anderen Drogentests nötig war (25 bis 1000 ng/ml). Die Schnelltests mit einem höheren Cutoff von 20 ng/ml (DRUGSCREEN) und 100 ng/ml (COZART) waren im Vergleich deutlich weniger sensitiv.

Die durchgeführten Untersuchungen haben anhand von Bestätigungsanalysen mit GC/MS der Ergebnisse des sensitivsten immunochemischen Labortests INSPEC gezeigt, dass je sensitiver (Cutoff 0,5 ng/ml) der Test ist, umso präziser BUP im Urin tatsächlich nachgewiesen werden kann. Allerdings kommt es auch bei diesen sensitiven Tests in bis zu 11% der Fälle zu falschen (falsch negativen und falsch positiven) Ergebnissen. Ein noch niedrigerer Cutoff würde vermutlich die Zahl der echt positiven Ergebnisse nur wenig, aber die Zahl der falsch positiven deutlich erhöhen. Als Test für Beikonsum und für die forensische Anwendung ist der INSPEC geeignet, hat aber für den laborärztlichen Bereich die Nachteile, dass er einzelne Proben nicht schnell abarbeiten kann und einen eigenen Autoanalyzer braucht. Hingegen ist der CEDIA auf verschiedenen Autoanalyzern einsetzbar und die UK können schnell getestet werden. Der CEDIA hat einen Cutoff von 2 ng/ml und ist als schnelle laborärztliche Methode geeignet. Für den klinischen Einsatz sind diese laborärztlichen Testverfahren nicht geeignet.

Für den klinischen Alltag haben sich der Ferle-BUP-Schnelltest und der Mahsan-BUP-Schnelltest mit einem Cutoff von 5 ng/ml bewährt. Die Schnelltests waren in der hier durchgeführten Untersuchung in der Lage, in der Präzision an den laborärztlichen CEDIA heranzukommen. Bei geringerer diagnostischer Sensitivität (falsch negative Ergebnisse) kam es jedoch zu weniger falsch positiven Ergebnissen. Dieses macht die Schnelltests geeignet für den klinischen Alltag. In Einzelfällen muss im klinischen Alltag die Notwendigkeit einer Bestätigungsanalyse berücksichtigt werden.

In unserem psychiatrisch komorbiden Untersuchungssample war die tatsächliche Urinkonzentration und ihre Auswirkung auf die Testergebnisse nicht verfolgt worden. Mögliche weitere Einflussfaktoren auf die Ergebnisse von Urinuntersuchungen auf Buprenorphin wie pH, begleitende somatische oder psychiatrische Medikation sind nicht analysiert worden. Ein Einfluss auf die Sensitivität in falsch positiver oder falsch negativer Richtung kann nicht ausgeschlossen werden. Daher muss in einer weiteren Untersuchung zunächst ein Einfluss dieser Faktoren auf das Ergebnis der sensitiven BUP-Tests abgewartet werden, um die endgültige Präzision festzulegen. Grundsätzlich ist ein Bestätigungstest durch ein Labor weder aus Zeitgründen noch aus Kostengründen im klinischen Alltag anwendbar. Zum jetzigen Zeitpunkt ist eine Präzision von über 92% der BUP-Schnelltests von Ferle und Mahsan für ein Testverfahren, das bislang in der Klinik fehlte, ausreichend. Sowohl die Funktionalität der Handhabung, die Schnellig-

keit der Ergebnisse als auch die Verfügbarkeit zusammen mit dem wirtschaftlichen Preis-Leistungsverhältnis spricht für den routinemäßigen Einsatz der BUP-Schnelltests.

Die vollständigen Ergebnistabellen der Untersuchungen können beim korrespondierenden Autor angefordert werden.

Literatur

- ¹ Böttcher M, Beck O. Evaluation of BUP CEDIA Assay versus GC-MS and ELISA using Urine Samples from Patients in Substitution Treatment. *J of Anal Toxicology* 2005; 29: 769 – 776
- ² Dörner K. Immunologische Methoden. *Klinische Chemie und Hämatologie*. Stuttgart: Georg-Thieme Verlag, 2003: 53 – 58