

# Evaluierung eines Tests zum Nachweis des Methadon-Metaboliten EDDP - eine neue Möglichkeit bei der Therapiekontrolle von Patienten im Methadonprogramm

Thomas Huber<sup>1</sup>, Ute Krispenz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Labor Dr. Limbach & Kollegen, Abt. Toxikologie, Heidelberg; <sup>2</sup>Microgenics GmbH Passau

## 1. Einleitung

Die Substitutionsbehandlung Heroinabhängiger mit Opioidagonisten, speziell dem Methadon, ist nicht neu und wurde in den USA bereits 1965 von Dole und Nyswander propagiert. Hintergrund waren die relativ schlechten katamnestic Ergebnisse vieler Drogenentzugstherapien.

Die rechtlichen Grundlagen zum Einsatz von Opiaten zu therapeutischen Zwecken sind in Deutschland im §13 des Betäubungsmittelgesetzes geregelt und die Verschreibung an Drogenabhängige ist nur unter ganz bestimmten Indikationen möglich. In den 1996 verfassten Leitlinien der Bundesärztekammer zur Substitution Opiatabhängiger wird detailliert zur Indikationsstellung und Durchführung von Methadon-Substitutionsprogrammen Stellung genommen. In diesen Rahmenbedingungen wird u.a. Art und Umfang der Therapiekontrolle festgelegt. So müssen nach den derzeit geltenden Richtlinien stichprobenartig Urine der substituierten Patienten qualitativ auf Beigebrauch anderer Suchtmittel untersucht werden, da fortgesetzter, die Therapieziele gefährdender Beikonsum als Kriterium zum Ausschluß aus dem Programm dient.

Um Patienten, die Methadon schnell verstoffwechseln oder deren Urin einen zu hohen pH-Wert aufweist, vor dem Vorwurf der Nichteinhaltung der Substitutionstherapie zu schützen bzw. Manipulationen durch Zusatz geringer Mengen an Methadon aufzudecken, wurde von der Firma Microgenics ein neuer Enzym-Immunoassay entwickelt, der den Methadon-Metaboliten EDDP detektiert und damit eine sichere, schnelle und verlässliche Methode zur Überwachung der Methadon-Einnahme im Substitutionsprogramm bietet.

Der CEDIA<sup>®</sup> DAU EDDP Test von Microgenics ist ein homogener Enzym-Immunoassay zur qualitativen bzw. semi-quantitativen Bestimmung von EDDP (2-Ethylidin-1,5-dimethyl-3,3-diphenylpyrrolidin) in humanem Urin unter Verwendung von klinisch-chemischen Analysensystemen. EDDP entsteht durch N-Demethylierung und Zyklisierung von Methadon und wird gemeinsam mit der unveränderten Substanz sowie einem anderen Metaboliten (2-Ethyl-5-methyl-3,3-diphenylpyrrolin oder EMDP) über den Harn und die Galle ausgeschieden.

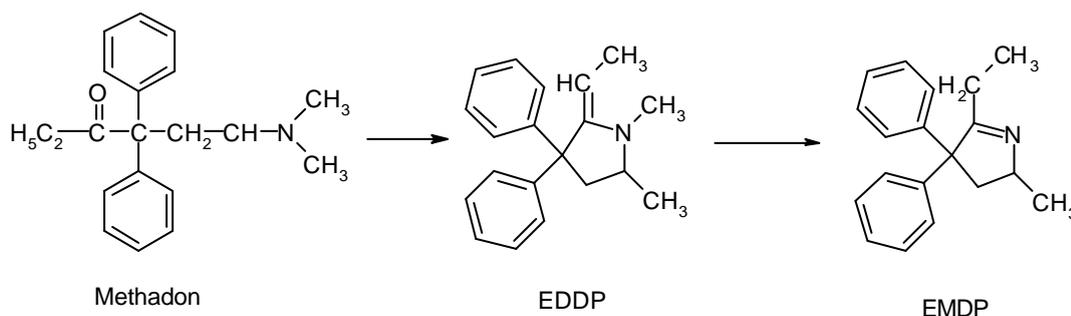


Abb. 1. Struktur von Methadon und seinen Methaboliten EDDP und EMDP

2-Ethylidin-1,5-dimethyl-3,3-diphenylpyrrolidin (EDDP) ist der Hauptmetabolit des Methadons. Methadon ist ein synthetischer Opiatagonist, ein Diphenylheptan-Derivat, das in erster Linie als Ersatzdroge für Heroin oder andere morphinähnliche Substanzen in Substitutionsprogrammen eingesetzt wird. Neben einer starken Verminderung der Entzugserscheinungen dient es dazu, dem Heroinsüchtigen die Möglichkeit zu geben, sich von der parenteralen Drogenaufnahme zu lösen und die orale Applikation an deren Stelle treten zu lassen.

Der Nachweis von Methadon wird hauptsächlich zur Überwachung der Einhaltung des Methadon-Substitutionsprogrammes eingesetzt. Gegenüber dem Methadon-Test hat ein Nachweis von EDDP jedoch mehrere entscheidende Vorteile:

Zum einen gibt es Personen, die Methadon sehr schnell verstoffwechseln (sog. „Fast Metabolizer“), so dass das eingenommene Methadon fast vollständig als EDDP und nur zu einem sehr geringen Teil als Methadon im Urin ausgeschieden wird. Damit kann die Methadonkonzentration unter dem Schwellenwert des verwendeten Methadon-Tests liegen. Der Methadonnachweis wird folglich als negativ bewertet, obwohl der Patient das Substitutionsprogramm einhält. Der EDDP-Test ist von diesem Effekt nicht betroffen und damit der ideale Nachweistest für eine korrekte Überwachung der Methadonsubstitution.

Andererseits gibt es Teilnehmer an den Substitutionsprogrammen, die ihre Methadon-Portion auf den illegalen Drogenmarkt umleiten und zur Verschleierung ihre Urinprobe mit einer geringen Menge Methadon manipulieren. Auch ein anhaltender Beigebrauch von weiteren Drogen wird oftmals durch Abgabe von drogenfreiem Fremdurin, welchem eine geringe Menge an Methadon zugesetzt wurde, verschleiert. Ein Methadon-Test würde zu einem positiven Ergebnis führen, obwohl der Patient das Substitutionsprogramm nicht einhält. Der EDDP-Test dagegen würde in diesem Falle zu einer eindeutigen Aussage verhelfen, da durch den Nachweis des Hauptmetaboliten EDDP im Urin die Aufnahme und Metabolisierung des Methadons im Körper sicher nachgewiesen ist.

Auch in bezug auf die renale Clearance bietet der EDDP Test eindeutig Vorteile. Während die renale Clearance von Methadon durch den pH-Wert des Urins beeinflusst wird, ist dies bei EDDP nicht der Fall. So kann es bei niedrigem pH (  $< 6.0$  ) zu einem fast dreifachen Anstieg der renalen Clearance kommen. Umgekehrt ist bei hohem pH (  $> 7.7$  ) die renale Clearance des unmetabolisierten Methadons eventuell zu niedrig, um bei einem Urintest ein positives Ergebnis zu liefern.

Der Microgenics CEDIA<sup>®</sup> DAU EDDP Test bietet damit eine sichere, schnelle und verlässliche Methode zur Überwachung der Methadon-Einnahme im Substitutionsprogramm. Patienten, die Methadon schnell verstoffwechseln oder deren Urin einen zu hohen pH-Wert aufweist, werden vor dem Vorwurf der Nichteinhaltung der Substitutionstherapie geschützt und Manipulationen können aufgedeckt werden.

## **2. Material und Methoden**

Es wurden insgesamt 592 Urine, die in der Laborroutine auf Methadon untersucht wurden, herangezogen. Die Aufbewahrung der Proben erfolgte bei +2 bis + 8°C.

Die Patientenproben wurden am Hitachi 911 (Fa. Roche Diagnostics, Mannheim) mittels semi-quantitativem Enzym-Immunoassay CEDIA<sup>®</sup> DAU (Fa. Microgenics, Passau) gemessen und anschließend mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC-UV) am REMEDI (Rapid Emergency Drug Identification; Fa. BioRad, München) bestätigt.

Enzym-Immunoassays:

- a) CEDIA® DAU Screening Test EDDP, homogener Enzym-Immunoassay, Schwellenwert (Cut off) 100 ng/mL bezogen auf EDDP (2-Ethylidin-1,5-dimethyl-3,3-diphenylpyrrolidin)
- b) CEDIA® DAU Screening Test Methadon, homogener Enzym-Immunoassay, Schwellenwert (Cut off) 300 ng/mL bezogen auf D,L-Methadon.

Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC-UV) am REMEDI mit Bestimmungsgrenzen für EDDP ca. 100 ng/mL und Methadon ca. 100 ng/mL.

### 3. Ergebnisse

Der Methodenvergleich für Enzym-Immunoassay versus HPLC-UV ist in Abb. 1 für EDDP dargestellt. In Abb. 2 sind die Enzym-Immunoassay-Ergebnisse für EDDP und Methadon einander gegenübergestellt. Die Auswertung der Daten von 232 Methadonpatienten ergab bei identischen Cut off-Konzentrationen (100 ng/mL) eine sehr gute Übereinstimmung (Spezifität 99,1%) zwischen dem immunologischen Nachweis (Microgenics, CEDIA® DAU EDDP) und dem in unserem toxikologischen Labor durchgeführten EDDP-Bestätigungstest (HPLC mit UV-Detektion der Fa. BioRad).

	HPLC EDDP positiv (> 100 ng/mL)	HPLC EDDP negativ (< 100 ng/mL)
CEDIA® DAU EDDP positiv (> 100 ng/mL)	219	1
CEDIA® DAU EDDP negativ (< 100 ng/mL)	1	11

**Abb. 1.** Vergleich der Ergebnisse der Prüfung auf EDDP durch Enzym-Immunoassay und HPLC

	CEDIA® Methadon positiv (> 300 ng/mL)	CEDIA® Methadon negativ (< 300 ng/mL)
CEDIA® EDDP positiv (> 100 ng/mL)	210	10
CEDIA® EDDP negativ (< 100 ng/mL)	7	365

**Abb. 2.** Gegenüberstellung der Enzym-Immunoassay-Ergebnisse für Methadon und EDDP.

Bei der in Abb. 1 ermittelten 11 EDDP-negativen Methadonpatienten wiesen drei Urine mittels EDDP Enzym-Immunoassay Konzentrationen im Bereich von 50 – 100 ng/mL (54, 59 und 65 ng/mL) auf. Leider konnten diese geringen Konzentrationen mittels der von uns eingesetzte HPLC-Methode nicht eindeutig bestätigt werden, da die Bestimmungsgrenze des HPLC-Verfahrens bei ca. 100 ng/mL EDDP liegt.

Das positive Methadon-Messergebnis zwei dieser Proben (113 und 132 ng/mL) mittels HPLC läßt aber die Vermutung zu, daß der CEDIA® EDDP Test auch im Bereich von 50 – 100 ng/mL noch mit ausreichender Spezifität (bei sehr hoher Sensitivität) einsetzbar ist.

#### **„Fast Metabolizer“ und „Spikers“**

Der Anteil der Personen, die Methadon sehr schnell verstoffwechseln (Fast Metabolizer – Methadon negativ und EDDP positiv) ist mit einem Anteil von 4,4% (10 von 227) nicht zu vernachlässigen. Vor allem unter dem Aspekt, dass diesen Personen, die im Verdacht der Nichteinhaltung des Substitutionsprogrammes stehen, ein Ausschluss aus dem Therapieprogramm oder auch andere rechtliche Konsequenzen drohen.

Der Anteil der Urinproben, die durch nachträgliches Hinzufügen geringer Mengen an Methadon manipuliert wurden (Spikers – Methadon positiv und EDDP negativ), ist mit einem Anteil von 3,1% (7 von 227) gering. Dies lässt sich dadurch erklären, dass durch unsere jahrelange Zusammenarbeit mit den an der Studie beteiligten Methadon-Schwerpunktpraxen bereits ausreichend auf die Problematik hingewiesen wurde und die Methadoneinnahme und Urinabgabe in der Regel unter ärztlicher Aufsicht stattfindet.

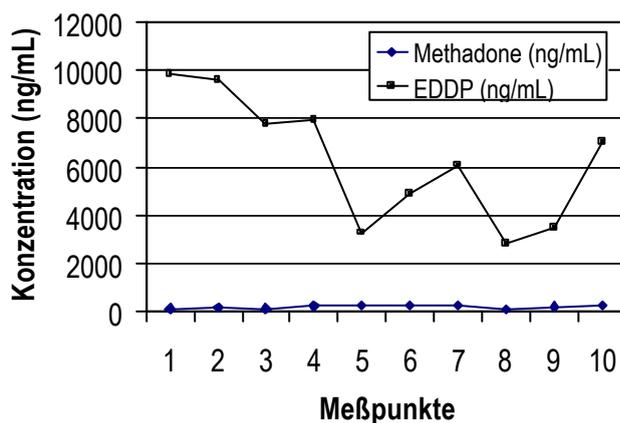
#### 4. Diskussion

Mit dem CEDIA<sup>®</sup> DAU EDDP Enzym-Immunoassay der Fa. Microgenics eröffnen sich neue Möglichkeiten der Therapiekontrolle von Patienten im Methadon-Substitutionsprogramm. Die Evaluierungsdaten zeigen, dass es sich hierbei nicht nur um einen sehr empfindlichen, sondern auch überaus spezifischen Test zur Erfassung des Methadon-Metaboliten EDDP handelt, der sich durch praktisch keinerlei Kreuzreaktivität zu Methadon auszeichnet. Das gibt dem Anwender die Möglichkeit, eine sichere und schnelle Aussage über die Einhaltung der Therapie zu treffen – verbunden mit einer kostengünstigen Vorgehensweise.

Aus unserer Sicht ist der EDDP Enzym-Immunoassay hervorragend geeignet, den herkömmlichen Methadon Enzym-Immunoassay vollständig zu ersetzen. Dabei möchten wir nochmals die beiden Hauptaspekte hervorheben:

##### *„Fast Metabolizer“*

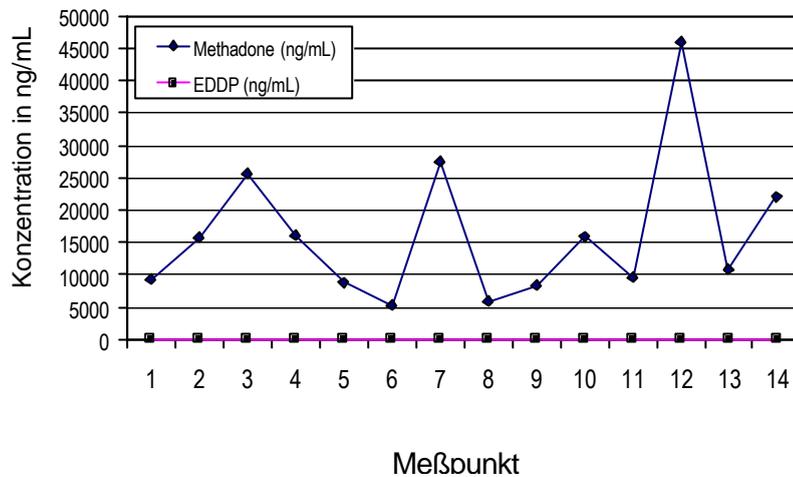
Diese Patientengruppe wird beim Screening auf Methadon zum größten Teil als falsch negativ bewertet, da die hier vorliegenden Methadonspiegel oftmals unter dem Cut off des verwendeten Methadon-Assays liegen und dieser Test praktisch keinerlei Kreuzreaktivität zum Metaboliten EDDP aufweist (< 0,02%). Ein typisches Beispiel ist in Abb. 3 dargestellt. Eine sichere Aussage ergibt sich hier erst durch die Bestätigungsanalyse mittels Chromatographie, die jedoch mit zusätzlichen Kosten verbunden ist.



**Abb. 3.** Zeitlicher Verlauf der Analysenwerte bei einem "Fast Metabolizer"

##### *„Spikers“*

Diese Patientengruppe stellt ein noch weitaus größeres Problem bei der Therapiekontrolle dar. Hierbei handelt es sich um Patienten, die durch Abgabe von drogenfreiem Fremdurin, dem eine gewisse Menge an Methadon zugesetzt wurde, dem behandelnden Arzt Drogenfreiheit vortäuschen bzw. den Beigebrauch verschleiern oder auch den eigenen Urin manipulieren zur Bestätigung der Einhaltung des Substitutionsprogrammes. Ein typisches Beispiel zeigt Abb. 4.



**Ab. 4.** bKonzentrationsverläufe für EDDP und Methadon bei einem typischen "Spiker".

Beim herkömmlichen Drogenscreening mittels Enzym-Immunoassay werden Proben, die auf solche Art manipuliert worden sind, auch unter Mitbestimmung des Urin-Kreatinin- und des pH-Wertes nicht als auffällig bewertet. Lediglich die chromatographische Analyse kann hier Aufschluß geben.

Da die Chromatographie jedoch nur in den wenigsten Fällen durchgeführt wird (in der Regel nur bei konkreten Verdachtsmomenten) und dies einen zusätzlichen Kostenfaktor darstellt, werden „Spiker“ in Krankenhäusern und Laborarztpraxen mit herkömmlichen Testverfahren praktisch nicht erkannt. Aber auch in Fachlabors mit entsprechender instrumenteller Ausstattung fallen „Spiker“ durch das „analytische Raster“ des enzymimmunologischen Screenings, so dass sich eine analytisch richtige Aussage oftmals nur aus einem Zufallsbefund ergibt.

CEDIA® is a registered Trademark of Roche Diagnostics

## Literatur

1. Michael Soyka: Drogen- und Medikamentenabhängigkeit, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart 1998
2. Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. 8<sup>th</sup> ed. NY: Pergamon Press; 1991
3. Baselt R.C., Cravey R.H.: Disposition of toxic drugs and chemicals in man; 3<sup>rd</sup> ed. Chicago; Year Book Medical Publisher; 1998
4. Goldman F.R., Thistel C.I.: Diversion of methadone - Illicit methadone use among applicants to two metropolitan drug abuse programs. Int. J. Addict. 1978; 13: 855-862
5. Verebely K. et al.: Methadone in man – Pharmacokinetic and excretion studies in acute and chronic treatment. Clinical Pharmacology and Therapeutics; Vol. 18, No. 2
6. Baselt R.C., Casarett L.J.: Urinary excretion of methadone in man. Clinical Pharmacology and Therapeutics; Vol. 13, No. 1
7. Nilsson M.I. et al.: Effect of Urinary pH on the disposition of methadone in man. Eur. J. Clin. Pharmacol 1982; Vol. 22: 337-342
8. Kreek M.J. et al.: Biliary secretion of methadone and methadone metabolites in man. Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology 1980; Vol. 29, No. 1
9. Bellward G.D. et al.: Methadone maintenance: Effect of urinary pH on renal clearance in chronic high and low doses. Clinical Pharmacology and Therapeutics, Vol. 22, No. 1
10. Brodin K. et al.: Monitoring of methadone dose intake: importance of urinary pH. Therapeutic Drug Monitoring 1997, Vol. 19, No. 5, p. 591

