

Immunochemische Untersuchung von Blutproben auf Methamphetamin mittels Inspec®-Enzymimmunoassays

J. Teske¹, J.-P. Weller¹, B. Axmann³, K. Schulz²

¹ *Institut für Rechtsmedizin der Medizinischen Hochschule Hannover*

² *Institut für Rechtsmedizin der TU Dresden*

³ *Mahsan Diagnostika Vertriebsgesellschaft mbH, Reinbek*

1. Einleitung

Immunochemische Screeningverfahren zur Erfassung von Drogen und Medikamenten werden seit längerem erfolgreich in toxikologischen Labors eingesetzt. Spätestens mit der Änderung des § 24 a StVG ist das Interesse an Verfahren, die direkt im Blut bzw. Serum angewendet werden können, stark gestiegen. Einige der Testsysteme, die zunächst für Urinproben entwickelt wurden, sind jedoch nicht ohne weiteres für Blut- und Serumproben einsetzbar bzw. müssen durch spezielle Probenvorbereitungsschritte (z.B. Eiweißfällung) entsprechend angepasst werden. Die für Routineprüfungen nötige Sensitivität wird dabei für bestimmte Stoffgruppen, einschließlich der Amphetamin- und Methamphetaminderivate, nicht ohne weiteres erreicht.

Zu den Screeningtests, die direkt für Blutproben geeignet sind, gehören z.B. die Mikroplatten-Enzymimmunoassays (Inspec®-EIA) der Firma Mahsan. Für die Gruppe der Amphetamin- und Methamphetaminderivate werden zwei verschiedene Tests, Inspec®-AMP-EIA und Inspec®-MET-EIA, angeboten. Untersuchungen haben gezeigt, dass es in der Regel ausreichend ist, bei den Untersuchungen den Amphetamin-Test (Inspec®-AMP-EIA) allein einzusetzen, da dieser Test in der Lage ist, auch MDMA-positive Proben zu erfassen [1]. Damit können letztlich der Aufwand und die Kosten der Untersuchungen relevant verringert werden.

In einigen Bundesländern, insbesondere in Sachsen, Thüringen und Bayern, ist neben MDMA der Konsum von Methamphetamin („Crystal“) weit verbreitet bzw. stellt nach Cannabis sogar den Hauptanteil des Konsums illegaler Drogen unter Jugendlichen dar [2]. Ferner ist zu erwarten, dass Methamphetamin demnächst in die Liste der relevanten Substanzen für § 24 a StVG aufgenommen wird. Im Rahmen der hier vorgestellten Untersuchungen sollte überprüft werden, ob Methamphetamin-positive Proben in der Praxis adäquat erfasst werden können, wenn die oben genannten Untersuchungsstrategie, mit alleinigem Einsatz des Amphetamintests, angewendet wird.

2. Material und Methoden

2.1 Probenmaterial

Im Rahmen der Untersuchungen wurden Serumproben aus polizeilichen Einsendungen des Institutes für Rechtsmedizin Dresden, die mittels GC/MS positive Befunde für Methamphetamin ergeben hatten, retrospektiv untersucht. Es handelt sich um 100 Proben, in denen bei der Bestätigungsanalyse Methamphetamin (Median: 151 ng/ml, Bereich: 26 - 601 ng/ml) nachgewiesen wurde. In 81 Proben wurde zusätzlich Amphetamin gefunden (Median: 26,6 ng/ml, Bereich: 5,3 - 61 ng/ml), wobei das Verhältnis Amphetamin/Methamphetamin durchschnittlich bei ca. 13,1% lag. Somit kann man davon ausgehen, dass das Kollektiv ganz überwiegend aus Methamphetamin-Konsumenten besteht, da lediglich in zwei Fällen relative Amphetaminge-

halte über 50% gefunden wurden, die auf möglichen Mischkonsum von Amphetamin und Methamphetamin hindeuten. Andere Amphetaminderivate - aus der Gruppe der Designer-Amphetamine - konnten bei der Bestätigungsanalyse nicht nachgewiesen werden. In 33 Proben waren weitere Drogenwirkstoffe (Cannabinoide, n = 32; Cocainderivate, n = 1; Opiate, n = 2) nachweisbar.

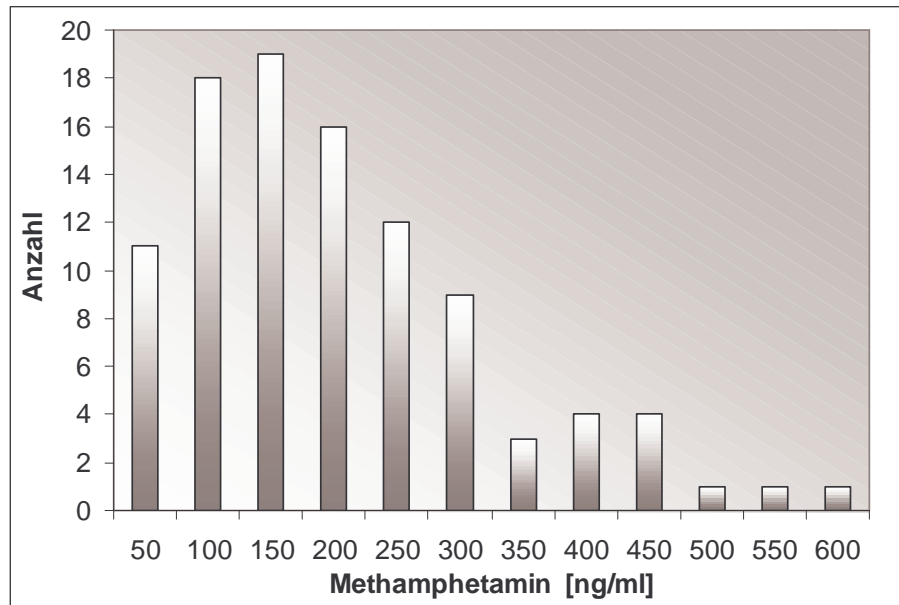


Abb.1: Häufigkeitsverteilung der Methamphetaminkonzentration in den untersuchten Proben.

2.2 Mikroplatten-Enzymimmunoassay

Die Proben wurden mit den Inspec®-AMP-EIA und Inspec®-MET-EIA (Mahsan® Diagnostika Vertriebsgesellschaft mbH) in Anlehnung an das vom Hersteller empfohlene Protokoll zur Testdurchführung [3, 4] untersucht.

Dazu wurden 25 µl Serum mit 100 µl Enzymkonjugat (Meerrettichperoxidase-Enzymkonjugat) versetzt und 40 min bei Raumtemperatur inkubiert. Nach sechsmaligem Waschen mit destilliertem Wasser erfolgte die Zugabe von Substratlösung (Tetramethylbenzidin / H₂O₂), wobei die Reaktion in dunkler Umgebung nach 30 min durch Versetzen mit 100 µl Stopplösung beendet wurde und die Proben mit einem Mikroplattenphotometer (Spectra der Firma TECAN) bei 450 nm (Referenz 620 nm) photometrisch vermessen wurde. In jedem Lauf wurden zu Beginn entsprechende Kalibratoren (0, 25, 100, 500 ng/ml) sowie eine 25 ng/ml-Kontrolle zum Schluss vermessen.

3. Ergebnisse

Die Ergebnisse der Messungen sind in Tabelle 1 zusammengefasst. Bei Anwendung des Amphetamin-Testkits waren anhand des in den Testunterlagen empfohlenen Cut-off-Wertes von 25 ng/ml lediglich 62 Proben positiv einzustufen. Bei einem Cut-off-Wert von 20 ng/ml waren 89 Proben (81,2%) positiv. Somit konnten bei Verwendung des Amphetamin-Tests 38 von 100 Proben (Cut-of 25 ng/ml) mit Methamphetaminkonzentrationen zwischen 26 - 374 ng/ml (Median: 92 ng/ml) im immunchemischen Screening nicht erfasst werden. Selbst bei einer Absenkung des Cut-off-Wertes auf 20 ng/ml würden 11 von 100 Proben mit Methamphetaminkonzentrationen zwischen 26 - 219 ng/ml (Median: 64 ng/ml) unentdeckt bleiben. Der Methamphetamin-Test reagierte dagegen bei 99 der 100 untersuchten Proben bei dem empfohlenen Cut-off-Wert von 25 ng/ml positiv. Eine Probe (Methamphetamin = 29 ng/ml

GC/MS-Bestätigungsanalyse) wurde nicht erfasst. Bei einem Cut-off-Wert von 20 ng/ml reagierten alle 100 Proben (100 %) positiv.

Tab. 1: Ergebnisse des Immunscreenings in 100 Methamphetamin-positiven Serumproben

Cut-off [ng/ml]	Sensitivität	Falsch negativen Proben
Inspec®-AMP-EIA		
25	62 %	n = 38; 26 - 374 ng/ml (Median: 92 ng/ml)
20	89 %	n = 11; 26 - 219 ng/ml (Median: 64 ng/ml)
Inspec®-MET-EIA		
25	99 %	n = 1; 29 ng/ml
20	100 %	n = 0

4. Diskussion

Die alleinige Anwendung des Inspec-Amphetamin-Tests kann nach den hier vorgestellten Untersuchungen für das Routinescreening auf Amphetamin- und Methamphetaminderivate in Serumproben nicht empfohlen werden. Der Test liefert zwar offenbar bei der Erfassung von MDMA befriedigende Ergebnisse [1], was wahrscheinlich größtenteils auf die Affinität des Antikörpers gegenüber MDA als MDMA-Abbauprodukt zurückzuführen ist (in den Testunterlagen sind für den Inspec®-AMP-EIA-Kreuzreaktivitäten von über 200% für MDA angegeben). Auf Methamphetamin-positive Proben, die Amphetamin als Abbauprodukt enthalten, kann diese Vorgehensweise jedoch nicht übertragen werden. Zur adäquaten Erfassung von Methamphetamin ist der Amphetamin-Test nicht geeignet und muß durch den entsprechenden Methamphetamin-Test ergänzt werden.

Literatur

- [1] G. Rochholz, J. Schäfer, F. Westphal, H.W. Schütz (2003) Vergleich verschiedener Mikrotiterplatten-Amphetamin- und Methamphetamin - Tests im Hinblick auf die neuen von der Grenzwertkommission empfohlenen Nachweisgrenzen zum § 24a StVG, Frühjahrstagung der DGRM Region Nord in Kiel, 16.-17. Mai 2003
- [2] J. Pietsch, K. Schulz, K.-J. Gregor (2005) Methamphetamin-Befunde im Regierungsbezirk Dresden in den Jahren 2000 – 2004 und ihre verkehrsrechtliche Verwertbarkeit, Berichte der Bundesanstalt für Straßenwesen M 171, S. 156 – 157.
- [3] Mahsan Diagnostika Vertriebsgesellschaft mbH (2005) Gebrauchsanleitung, Katalog für Inspec-EIAs
- [4] V.R. Spiehler, I.B. Collison, P.R. Sedgwick, S.L. Perez, S.D. Le, D.A. Farnin (1998), Validation of an Automated Microplate Enzyme Immunoassay for Screening of Postmortem Blood for Drugs of Abuse, Journal of Analytical Toxicology 22/7: 573-579