

## Immunassays in der Toxikologie: ist eine Bestätigung erforderlich?

N. Donzé<sup>1</sup>, M. Rossier<sup>1</sup>, M. Augsburger<sup>2</sup>, Zentralinstitut der Spitäler<sup>1</sup>, Spital Wallis, Sitten, CURML<sup>2</sup> Lausanne und Genf

### Fallbeispiel

Im Rahmen der Abstinenzkontrolle wird bei einem Patienten ein Drogenscreening durchgeführt. Man erwartet, dass im Urin keine gängigen Suchtmittel (Amphetamine, Benzodiazepine, Kokain, Opiate, Cannabis, Paracetamol) nachzuweisen sind. Tatsächlich aber fällt der Immunassay für Ecstasy und Amphetamine positiv aus. Der Patient streitet den Konsum von Amphetaminen oder Ecstasy ab. Nach dem Grundsatz „In dubio pro reo“ wird eine Bestätigungsanalyse mittels Massenspektrometrie durchgeführt. Dabei finden sich weder Spuren von Amphetaminen noch von Ecstasy. Stattdessen werden die folgenden Substanzen nachgewiesen: Phenylephrin, Ascorbinsäure und Paracetamol, die Bestandteile von Neo-Citran<sup>®</sup>. Es handelt sich somit um ein falsch-positives Ergebnis. Tatsächlich ist bekannt, dass Phenylephrin mit immunologischen Amphetamintests kreuzreagieren kann.

### Immunassays

Immunologische Testverfahren werden für das Screening auf verschiedene, insbesondere psychoaktive Substanzen wie Arzneimittel oder verbotene Substanzen eingesetzt. Es handelt sich dabei um Immunassays, deren Funktionsprinzip in einer Antikörper-Antigen-Reaktion besteht. Dieses setzt die Entwicklung geeigneter Antikörper voraus, die mit den jeweiligen Zielsubstanzen reagieren, in unserem Fall also mit Arzneimitteln, illegalen Substanzen und deren Metaboliten.

Die technischen Grundlagen der Immunassays wurden in der ersten Hälfte des 20. Jahrhunderts von Dr. Rosalyn Yalow (die für ihre Arbeit 1977 den Nobelpreis für Medizin erhielt) und Dr. Solomon Berson mit dem Ziel entwickelt, die Insulinmenge im Blut von Diabetikern zu bestimmen. Später wurde diese Technik auch für den Nachweis von nicht-peptidischen, niedermolekularen Substanzen wie psychoaktiven Arzneimitteln und illegalen Drogen eingesetzt. Währenddessen hatte man seit Beginn der Anwendung dieser Technologie zum Nachweis von Drogen und Arzneimitteln in den 1970er-Jahren bemerkt, dass ihre Spezifität für kleine Moleküle, deren chemische Strukturen oft sehr nah beieinander liegen, zu wünschen übrig liess. Der Wissenschaftsgemeinde wurde schnell bewusst, wie wichtig es ist, die Kreuzreaktionen der für die Immunassays verwendeten Antikörper zu kennen, die zu falsch-positiven Ergebnissen führen können.

Analyten oder Analytenklassen	Beispiele für Substanzen, von denen signifikante Interferenzen ausgehen können
Amphetamine	Chlorpromazin, Desipramin, Fluoxetin, Phenylephrin, Trazodon, Trimipramin, Vicks Inhaler
Benzodiazepine	Sertarlin, Citalopram, Esomeprazol, Fluxetin, Isotretinoin, Lidocain, Rabeprazol, Venlafaxin
Cannabis	Dronabinol, Efavirenz, Ibuprofen, Promethazin, Protonenpumpenhemmer, Sulindac, Tometin, Methotrexat
Kokain	Cerufloxim, Cyamemzin, Darunavir, Doxylaminsuccinat, Levomepromazin, Tropatepin
Methadon	Paracetamol, Diphenhydramin, Atomoxetin, Dexhlopheniramin, Dimenhydrinat, Doxylamin, Tapentadol
Opiate	Abacavir, Carvedilol, Cefalexin, Cinoxacin, Cyanemazin, Doxepin, Fleroxacin, Gabapentin, Hydrocodon, Hydromorphon, Lamivudin, Mepivacain, Methotrexat, Mirtazapin, Oxycodon, Pholcodin, Procain, Prothipendyl, Rifampicin, Trimipramin
Oxycodon	Codein, Methotrexat
Paracetamol	Methotrexat, Anipiprazol
Tramadol	Methotrexat

Tabelle 1: Beispiele für Interferenzen durch Kreuzreaktion

Die beschränkte Zuverlässigkeit der Immunassays hat dazu geführt, dass die internationalen Leitlinien die Durchführung von Bestätigungs- und/oder Charakterisierungsanalysen mithilfe chromatographischer und massenspektrometrischer Methoden empfehlen. Ein positives Ergebnis eines Screening-Tests kann weder durch einen anderen Suchtest bestätigt werden, noch eignen sich diese Testverfahren für Zwecke der Quantifizierung eines Analyten in einer biologischen Probe.

Der Konsum eines Arzneimittels oder einer verbotenen Substanz kann mithilfe immunologischer Testverfahren generell nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden. Die Ergebnisse dieser Tests können lediglich

darauf hinweisen, dass der Konsum einer Substanz mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit stattgefunden hat.

Die alleinige Verwendung von Immunassay-Ergebnissen für Zwecke staatsanwaltschaftlicher oder anderer behördlicher Ermittlungen steht in Widerspruch zu nationalen und internationalen rechtsmedizinischen (forensischen) Empfehlungen. Wenn es um den Nachweis einer Straftat oder Ordnungswidrigkeit geht, ist eine Bestätigungsanalyse mittels Chromatographie und Massenspektrometrie insbesondere im Fall der Anfechtung eines Testergebnisses unverzichtbar.

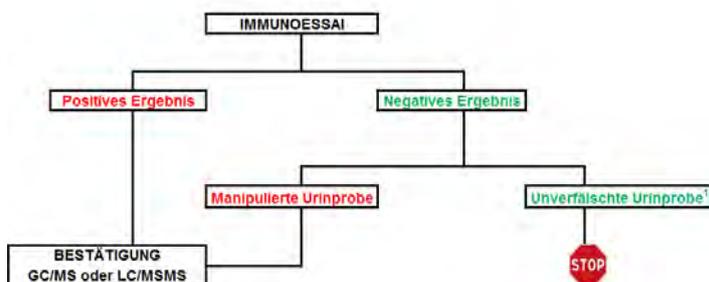
Falsch-negative Ergebnisse werden beim Drogenscreening ebenfalls gelegentlich beobachtet. Aus forensischer Sicht stellt die grosse Anzahl der Verfälschungsmittel, die eingesetzt werden, um das Vorhandensein von Substanzen im Urin zu verschleiern (zum Beispiel Essig, Zitronensaft, Salz, Lösungsmittel, Wasserstoffperoxid, Javelwasser, Detergenzien, Flüssigseife, Anioniak, Blut sowie ganz einfaches Wasser, mit dem der Urin verdünnt wird), ein Problem dar.

Allgemein gesprochen zeichnet sich eine unverfälschte Urinprobe durch folgende Eigenschaften aus:

Temperatur	33°C–36°C
Farbe	blässgelb bis dunkelgelb
Schäumfähigkeit	vernachlässigbar
Kreatinin	> 400 µmol/l (> 45 mg/dl)
Dichte	1,007–1,035
pH	4,5–8,0

### Algorithmus

Bei einem Screening (Immunassay) schreibt die gute Laborpraxis im Bereich der Toxikologie die unten beschriebene Vorgehensweise vor. In der präanalytischen Phase ist es erforderlich, die Miktion zu beobachten, um das Risiko einer Verfälschung oder eines Vertauschens der Probe zu minimieren.



### Präanalytik und Tarif

	Methode	BSV-Position	Punkte
Screening	Immunassays	1686.00	19.4
		1687.00	13
	GC-MS	1684.00	145

### Probe

Urin

### Literatur

- [1] Guidelines de la société américaine de toxicologie forensique (SOFT).
- [2] Passer à travers les tests de dépistage : substitution, dilution, adulteration des urines et des cheveux, ATA, Véronique Dumestre (<http://dx.doi.org/10.1051/ata/2002038>)
- [3] [http://www.mayomedicallaboratories.com/it-mmfiles/Adulterant\\_Survey\\_Algorithm.pdf](http://www.mayomedicallaboratories.com/it-mmfiles/Adulterant_Survey_Algorithm.pdf)

### Kontaktpersonen

Nicolas Donzé  
Dr. Marc Augsburger

nicolas.donze@hopitalvs.ch  
marc.augsburger@chuv.ch