

Bestimmung von Opiaten aus Speichel unter Verwendung eines neuen Sammelsystems

Lydia Halwachs, Rainer W. Schmid
Biopharmazeutische und Toxikologische Analytik
Medizinische und Chemische Labordiagnostik
Medizinische Universität Wien, Österreich
rainer.schmid@meduniwien.ac.at

Bettina Türk, Dietmar Leichtfried
Greiner Bio-One GmbH
4550 Kremsmünster
Österreich
dietmar.leichtfried@gbo.com

Micheal Böttcher
Laborpraxis-Dessau
06847 Dessau
Deutschland
michael.boettcher@laborpraxis-dessau.de

Einleitung

Speichel als Probenmedium in der klinischen Diagnostik bietet, im Vergleich zu Blut oder Urin, eine Vielzahl von Vorteilen: Die leichte Gewinnbarkeit und nicht invasive Probenahme stellt eine stressfreie Alternative zur Blutabnahme dar. Das Analytmedium Speichel variiert jedoch stark in Menge und Zusammensetzung, hat eine mikrobielle Begleitflora und kann durch Speisereste verunreinigt sein.

Ein neues Speichelsammelsystem (Greiner Bio-One Saliva Collection System) erlaubt erstmals eine standardisierte Speichelsammlung unter Verwendung einer Spülflüssigkeit und verhindert dadurch eine Diskriminierung von Analyten, wie dies bei trägergebundenen Sammelsystemen auftritt. Durch die flüssige Phase und die einfache Handhabung des Systems ist eine Speichelgewinnung auch bei Mundtrockenheit (Xerostomie) möglich und das System ist auch für die Eigenanwendung geeignet.



Das Greiner Bio-One Speichelsammelsystem

Material und Methoden

Zum Nachweis von Opiaten im Speichel wurde von 12 Versuchspersonen bestimmte Mengen (50 - 200 g) von Blaumohn mit einem Morphingehalt von ca. 240 mg/kg und einem Codeingehalt von ca. 10 mg/kg konsumiert und es wurden Speichelproben in über die folgenden 8 Stunden gesammelt. Die Sammlung des Speichels erfolgte mittels des neuen Speichel-Sammelsystems (Abb. 1): Durch Spülen der Mundhöhle mit der SES (Saliva Extraction Solution mit einem pH Wert von 4,2) wird der Speichel von der Speichelsammellösung aufgenommen, wodurch es zu einer Verdünnung der SES kommt. Der Speichelanteil in der so gesammelten Probe wird über photometrische Messung des enthaltenen Farbstoffes bei 450 nm berechnet.

Die Bestimmung der Opiatkonzentration im Speichel erfolgte mit einem neuen CEDIA Speichelimmunoassay (Fa. Microgenics) auf einem klinische Analyzer (Olympus AU 640). Die Ergebnisse wurden mittels GC/MS bestätigt. Nach SPE Extraktion (über MP3-Säulen) wurden die Morphie nach PFFA Derivatisation über eine Kapillarsäule getrennt (15m x 0.25mm DB5-MS) und im SIM Modus quantifiziert (mit Morphin d-3 als Interner Standard).

Ergebnisse

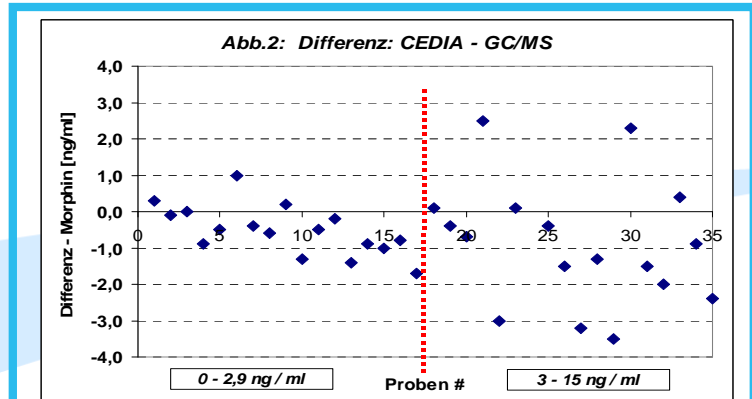
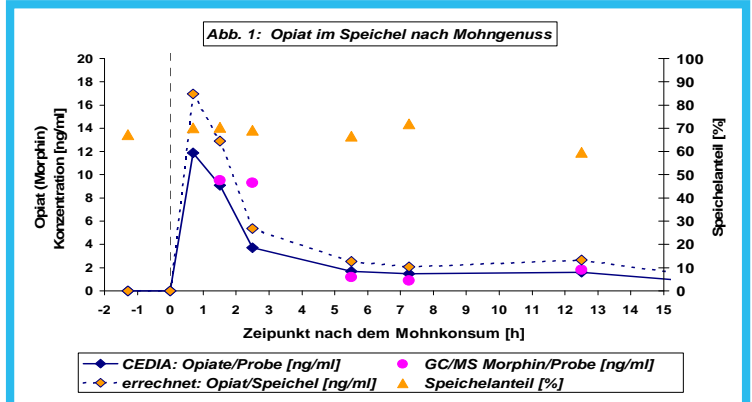
Die Untersuchungen zeigten, dass mit dem neuen CEDIA Speichelassay von Microgenics Opiate mit einer Sensitivität von < 3 ng/ml in den gewonnenen Speichelproben nachgewiesen werden können. Über den ermittelten Speichelanteil lässt sich die Opiatkonzentration im Speichel unproblematisch errechnen. Nach Konsum von Morphin-haltigem Mohn können die Opiate im Speichel über mehrere Stunden verfolgt werden (Abb.1).

Die mit dem CEDIA gemessenen Werte korrelieren gut mit den GC/MS Werten (Tabelle und Abb.2)

Zusammenfassung

Das Greiner Bio-One Speichelsammelsystem erweist sich nach diesen Ergebnissen als einfach anzuwendendes und praktikables Speichelsammelsystem im Rahmen vom Drogentesten. Der mit diesem System gewonnene Speichel kann direkt und automatisiert mit optimierten Routineassays auf gängigen klinisch chemischen Routineanalyzern (wie z.B. Olympus AU640) abgearbeitet werden.

Mit diesem System konnte beispielhaft eine aktuelle Opiatintoxikation nachgewiesen werden. Diese Resultate zeigen, dass dieses neue Speichelsammelprinzip eine brauchbare Basis für den Nachweis auch anderer psychotropen Substanzen und Drogen im Speichel sein kann.



Proben #	Zeit nach Mohnkonsum [h]	CEDIA: Opiate in Probe [ng/ml]	GC/MS: Morphin in Probe [ng/ml]	Abweichung GC/MS - CEDIA	Speichelanteil [%]	CEDIA Opiate im Speichel errechnet [ng/ml]
1	4,5	1,0	0,5	-0,5	75,4	1,3
2	4,5	2,1	0,7	-1,4	58,8	3,6
3	7,3	1,5	0,9	-0,6	71,8	2,1
4	9,6	1,4	1,0	-0,4	66,9	2,1
5	7,2	2,2	1,2	-1,0	76,1	2,9
6	2,8	2,1	1,2	-0,9	69,9	3,0
7	5,5	1,7	1,2	-0,5	66,7	2,5
8	1,5	2,3	1,5	-0,8	76,2	3,0
9	2,5	1,9	1,7	-0,2	74,0	2,6
10	12,5	1,6	1,8	0,2	59,6	2,7
11	9,5	5,2	2,0	-3,2	55,2	9,4
12	2,5	1,1	2,1	1,0	62,1	1,8
14	0,7	3,0	2,3	-0,7	77,4	3,9
15	7,3	2,7	2,3	-0,4	61,5	4,4
16	1,6	2,4	2,5	0,1	72,4	3,3
17	0,5	6,2	2,7	-3,5	65,0	9,5
18	1,5	4,7	3,2	-1,5	62,4	7,5
19	2,5	3,8	3,4	-0,4	57,8	6,6
20	1,5	3,4	3,5	0,1	70,7	4,8
21	1,5	6,6	4,6	-2,0	47,9	13,8
22	0,7	6,0	4,7	-1,3	74,7	8,0
23	0,5	6,4	4,9	-1,5	61,4	10,4
24	5,5	3,1	5,6	2,5	65,5	4,7
25	0,7	6,2	8,5	2,3	66,4	9,3
26	2,5	3,7	9,3	5,6	69,1	5,4
27	1,5	9,1	9,5	0,4	70,5	12,9
28	1,5	11,9	11,0	-0,9	56,1	21,2
29	0,5	14,3	11,9	-2,4	75,0	19,1
30	1,3	15,5	14,8	-0,7	53,0	29,2