

Cannabinoide und Cocain in Serum – Erfassung des Konsums mit P.I.A.² durch Lateral-Flow Teststreifen mit LC-MS/MS bzw. GC-MS-Bestätigung

Helene Urbain¹, Rolf Aderjan^{1,2}, Wolfgang Weinmann³

¹Protzek Gesellschaft für biomedizinische Technik mbH, Tüllingerstr. 36a, D-79539 Lörrach; Helene.Urbain@proteck.info

²Am Stangenberg 31, D-69239 Neckarsteinach; aderjan@aderjan.eu

³Universität Bern, Institut für Rechtsmedizin, Forensische Toxikologie und Chemie, Bühlerstraße 20, CH-3012 Bern; wolfgang.weinmann@irm.unibe.ch

1. Einleitung

Urin ist traditionellerweise die biologische Matrix der Wahl, um ein Screening auf Drogen und Suchtmittel durchzuführen, da die Wirkstoff- oder Metaboliten-Konzentrationen im Urin vergleichsweise hoch sind und Urin nicht invasiv verfügbar ist [1]. Normalerweise werden dazu Immunassays eingesetzt, die jedoch eine geringere Spezifität im Vergleich zu chromatographischen Methoden haben [2]. Für die forensische Verwertung von positiven Immunoassay-Ergebnissen sind diese mit einem zweiten unabhängigen Verfahren, gemäß Richtlinien der GTFCH, zu bestätigen, in der Regel mit GC-MS oder LC-MS/MS.

Aufgrund verschiedener Konstellationen, sei es der Bedarf des gezielten Nachweises von bestimmten Drogen in Blut im Gegensatz zu einem breit angelegten Screeningverfahren für einen forensischen Zweck - oder aufgrund der Nichtdurchführbarkeit einer Urinentnahme - wird manchmal auf die Analyse von Urin verzichtet. Auch in Arztpraxen - in denen eine Sichtkontrolle bei der Urinabnahme nicht gewährleistet werden kann - wird gerne auf Blut ausgewichen, da hier keine Manipulationsmöglichkeit vorhanden ist. Immunologische Drogen-Screenings von Blut/Serum oder Plasma werden bisher in Laboren durchgeführt, die über validierte Verfahren mittels Immun-Analysen verfügen. Teilweise ist eine Probenaufarbeitung z. B. durch Proteinfällung notwendig [3].

Neben den immunologischen Screenings, die an Laborautomaten durchgeführt werden, kommen in Arztpraxen, bei der Arbeitsplatzüberwachung, bei der Polizei oder in Rehabilitationszentren häufig Lateral Flow Immunoassays (LFAs) als Vortest auf Drogen im Urin zum Einsatz. LFAs sind einfach in der Durchführung, kostengünstig und liefern schnelle qualitative oder semi-quantitative Ergebnisse. Obwohl LFAs im Blut schon u. a. zum Screening auf Organversagen (Diabetes, Herz- und Nierenversagen) oder zur Detektion von Infektionen auf spezifische Pathogene eingesetzt werden [4][5], sind LFAs zur Bestimmung von Drogen im Blut bislang nicht verfügbar. Zudem werden LFAs meist visuell ausgewertet, was die Anforderungen an eine akkreditierungsfähige Laboranalytik nicht erfüllt.

Δ 9-Tetrahydrocannabinol (THC) ist die psychoaktive Hauptkomponente mit den Hauptmetaboliten 11-Hydroxy- Δ 9-THC (11-OH-THC), 11-nor-9-carboxy- Δ 9-THC (THC-COOH) und dessen Glucuronid, die alle in Blut nachgewiesen werden können. Cocain wird nach der Aufnahme schnell zu den Hauptmetaboliten Benzoyllecgonin, Methylecgonin und weiteren metabolisiert, und ist im Blut außerdem hydrolyseempfindlich, wenn die Proben nicht mit Esterasehemmern stabilisiert sind.

Der Nachweis der Wirkstoffe THC bzw. Cocain in der Blutprobe lässt zumindest ansatzweise Rückschlüsse auf einen möglichen Drogeneinfluss zu, wenn dieser auch nicht direkt mit der

Wirkstoffkonzentration korreliert (vor allem bei THC). Für Suchtkliniken und Ärzte kann die Detektion von Gesamt-Cannabinoiden bzw. Cocain-Metaboliten wichtig sein, um festzustellen, ob ein Konsum vorliegt. Für den Nachweis eines Drogeneinflusses im Straßenverkehr ist hingegen die Feststellung der Konzentration der aktiven Wirkkomponenten im Blut notwendig, was üblicherweise mit Massenspektrometrie (GC-MS oder LC-MS/MS) realisiert wird.

Maschinengelesene LFAs in Blut bzw. Serum mit definierten Cut-offs in Bezug auf die Drogenkonzentrationen in Serum würden helfen, die Anwesenheit von Drogen als Vortest im Blut zu erfassen bzw. aktuellen Drogenkonsum aufzudecken. Das Einsatzgebiet wäre überall dort, wo ein schnelles Ergebnis oder eine bessere Vorhersage - im Vergleich zu Urin-Tests - im Hinblick auf den Ausgang einer anschließenden Bestätigungsanalyse benötigt wird.

Die vorliegenden Untersuchungen mit dem Analysensystem P.I.A.² (Details siehe Material und Methoden) wurden durchgeführt, um die Anwendbarkeit speziell für Blutserum geeigneter maschinenlesbarer Lateralflow-Schnelltests in Blutserum zu testen. Ziel war die Prüfung auf eine ausreichende Sensitivität, Spezifität und Genauigkeit der Erfassung von Cannabinoiden und Cocain bzw. Cocain-Metaboliten, auch im Hinblick auf Konzentrationsgrenzwerte, wie sie in der Schweiz im Rahmen der Fahrtüchtigkeitsbeurteilung (Fahrfähigkeitsbeurteilung) relevant sind.

2. Material und Methoden

Die Studie wurde vom Forschungs- und Entwicklungslabor der Firma Protzek GmbH in Kooperation mit dem Institut für Rechtsmedizin der Universität Bern durchgeführt. Die Messungen wurden unter standardisierten Bedingungen mit Hilfe des Analysensystems P.I.A.² und mit immunologischen Blutschnelltests für Cannabinoide und Cocain (Prototypen von Protzek) durchgeführt. Das Analysensystem P.I.A.² besteht aus einem neuartig entwickelten opto-elektronischen Mess- und Auswertesystem für Lateral-Flow-Streifentests auf Basis Gold-markierter spezifischer Antikörper. Im Wesentlichen werden mit P.I.A.² die jeweilige Lage und die Intensität der betreffenden Testlinie, die sich auf dem Teststreifen in Abhängigkeit von der Drogenkonzentration in der Probe entwickelt, reflektions-spektrometrisch vermessen.

Insgesamt standen 111 Blutserumproben aus dem rechtsmedizinischen Untersuchungsgut (Fälle von „Fahren unter Drogen“) zur Verfügung, die entweder Cannabinoide (n = 63) oder Cocain bzw. Benzoylecgonin, sowie Ecgoninmethylester (EME) (n = 48) enthielten. Das Serum wurde aus Fluorid-stabilisierten Blutproben gewonnen. Für die Messung mit P.I.A.² wurden 100 µl Serumproben, die durch Zentrifugation von Blutproben gewonnen wurden, auf den P.I.A.² THC bzw. COC LFA-Tests aufgetragen und nach 10 min mit P.I.A.² analysiert. Die zuvor mit GC-MS bzw. LC-MS/MS bestimmten Konzentrationen der Einzelsubstanzen (im Vollblut) wurden mit den P.I.A.² Daten der Serumproben, also den entsprechenden Testlinienintensitäten, in Beziehung gesetzt. Für die Kalibration wurde eine Rodbard-Funktion verwendet, um die Konzentrationswerte den Intensitätswerten zuzuordnen.

Die Konzentrationen der Cannabinoide in Blut wurden mit einer etablierten LC-MS/MS bestimmt [6]. Die Analyse auf Cocain- und Cocain-Metaboliten erfolgte mit einer validierten GC-EI-MS Methode (nach Festphasenextraktion und Derivatisierung mit Perfluorpropionsäureanhydrid und 2,2,3,3,3-Pentafluoropropanol). Für die Umrechnung von Cannabis-Konzentrationen in Blut auf Serumkonzentrationen wurden die publizierten Serum/Blut-Verteilungsfaktoren für Cannabinoide verwendet [7], für THC 1,5, 11-OH-THC 1,6 und für THC-COOH 1,7. Für Cocain und Benzoylecgonin wurde von einem Serum/Blut-Verteilungsfaktor von ca. 1,0 ausgegangen.

Anschließend wurde ein idealer P.I.A.² Cut-off für die allgemeine Erfassung von Cannabis- bzw. Cocain-Konsum in Bezug auf richtig-positive und richtig-negative Ergebnisse eingestellt. Die Leistungsparameter wurden über die Vierfeldertafel der Tests für die richtige Erkennung von Gesamt-Cannabinoiden und Cocain (-Metaboliten) bzw. entsprechend der ASTRA-Weisungen der Schweiz für THC bzw. Cocain in Blut mit P.I.A.² ermittelt.

3. Ergebnisse

In Abbildung 1 sind die gemessenen Daten von P.I.A.² gegen die Serumkonzentration, die aus den massenspektrometrisch bestimmten Konzentrationen im Blut berechnet wurden, aufgetragen, links für 11-nor-9-carboxy- Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC-COOH), und rechts für Benzoyllecgonin. Dazu sind nominell sog. Volumeneinheiten angegeben, die sich aus der mit 1600 Pixel aufgelösten Grundfläche der Testlinie und der Summe der Einzelintensitäten je Pixel ergaben, mit einem Bereich von ca. 0 bis 10 Millionen. Die Daten zeigen einen Zusammenhang zwischen Testlinienintensitäten und der jeweiligen THC-COOH-Konzentration (Abb. 1, links). Die Kreuzreaktivität (KR) 11-OH-THC ist 100 %, von THC-COOH-Glucuronid ist die KR nicht bekannt, von THC ist diese $< 0,1$ %. Die gemessenen P.I.A.² Testlinienintensitäten der Cocain Serumproben zeigen ebenfalls einen Zusammenhang zu den bestätigten Benzoyllecgonin-Konzentrationen (Abb. 1, rechts). Die KR von Cocain beträgt $< 0,3$ % und von EME $< 0,2$ %. Die Detektionsgrenzen für P.I.A.² THC-Bluttests im Serum liegen für THC-COOH bei ca. 1-3 ng/ml und für COC-Bluttests bei ca. 6 ng/ml Benzoyllecgonin.

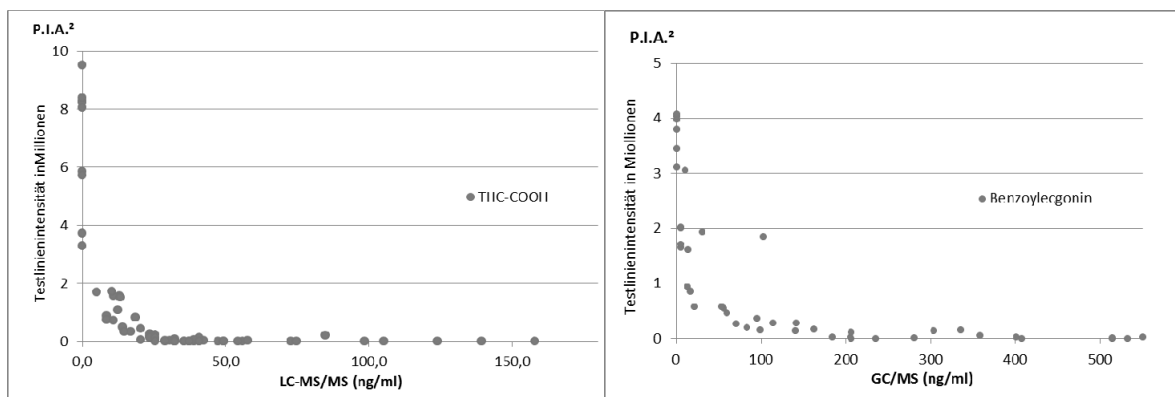


Abb. 1, links: 63 mit LC-MS/MS im Blut bestimmte und auf Serum umgerechnete THC-COOH-Konzentrationen, aufgetragen gegen die Testlinienintensität mit P.I.A.² (Leerproben eingeschlossen). Rechts: 48 mit GC/MS im Blut bestimmte Benzoyllecgonin-Konzentrationen, aufgetragen gegen die Testlinienintensität mit P.I.A.² (Leerproben eingeschlossen). Es wurde ein Serum/Blut-Verteilungskoeffizient von 1,0 zugrunde gelegt.

Anwendung von P.I.A.² THC mit Cut-off Entscheidung

In 53 (84,1%) der Blutproben wurden mit LC-MS/MS THC, THC-OH und THC-COOH in der Summe mit einer Konzentration von > 3 ng/ml im Blut nachgewiesen. In 10 Proben waren keine Cannabinoide festzustellen (15,9 %). Das P.I.A.² wurde auf Basis der gemessenen freien THC-COOH-Konzentrationen im Serum kalibriert. Durch Festlegen einer P.I.A.² Entscheidungsgrenze von einem Volumenwert der Testlinienintensitäten von 2 Mio., entsprechend > 3 ng/ml THC-COOH im Serum (entsprechend $> ca. 1,8$ ng/ml THC-COOH in Blut), konnten diese 53 Proben als „richtig-positiv“ auf THC und seine Metabolite massenspektrometrisch bestätigt werden. Die restlichen 10 Proben wurden mit P.I.A.² THC auf dieser Basis „richtig-negativ“ angezeigt. Leistungsdaten dazu wurden anhand der Vierfeldertafel ermittelt (Tabelle 1, links).

Im Bezug auf die ASTRA-Weisungen gemäß Art. 2.2 VRV der Schweiz (Grenzwert 1,5 ng/ml THC im Blut) enthielten 33 der 63 Proben $\geq 1,5$ ng THC/ml Blut. 24 Proben konnten mit P.I.A.² THC bei einer Entscheidungsgrenze von 40.000 Volumeneinheiten als richtig positiv detektiert werden (entspricht einer Sensitivität von 72,7 %). Die entsprechenden Leistungsparameter wurden über die Vierfeldertafel errechnet (Tabelle 1, rechts). Mit P.I.A.² THC wurden in Bezug auf ASTRA-Weisungen (mit dem Grenzwert von 1.5 ng/ml THC im Blut) 6 „falsch-positive“ Befunde erhalten (s. Tabelle 3, Proben-Nummern 17, 43, 53, 22, 31, 34). Alle sechs können aufgrund der Kalibrier- und Zielsubstanz THC-COOH des Assays erklärt werden.

Anwendung von P.I.A.² COC mit Cut-off Entscheidung

Mit GC/MS war Benzoyllecgonin in 42 Blutproben nachgewiesen worden (87,5 %), 4 davon enthielten weniger als 10 ng/ml Benzoyllecgonin. EME war mit GC/MS in 27 Proben festgestellt worden. 18 Proben davon enthielten zusätzlich Cocain. Mit P.I.A.² COC wurde in 41 (85,4 %) Seren eine positive Anzeige erhalten, die mit GC/MS in Blut bestätigt wurde. Die restlichen 7 Proben waren mit P.I.A.² COC negativ. Kalibriert wurde P.I.A.² auf Basis der Benzoyllecgonin-Konzentrationen. Mit einer P.I.A.² Entscheidungsgrenze von 3 Millionen Volumeneinheiten entsprechend 6 ng/ml Benzoyllecgonin konnten die besten Ergebnisse erhalten werden (Tabelle 2, links).

Wertet man die Ergebnisse hinsichtlich der Erfassung von Cocain in Bezug auf ASTRA-Weisungen gemäß Art. 2.2 VRV (mit Grenzwert von 15 ng/ml Cocain in Blut) aus, so ergeben sich die in Tabelle 2, rechts gelisteten Kennzahlen. Mit P.I.A.² COC wurden in Bezug auf ASTRA-Weisungen (Grenzwert: 15 ng/ml Cocain) vier „falsch-positive“ Befunde erhalten (s. Tabelle 4, Proben-Nummern 25, 37, 42, 39). Alle vier können aufgrund der Kalibrier- und Zielsubstanz Benzoyllecgonin des Assays erklärt werden.

4. Diskussion

Die Ergebnisse zeigen, dass die ursprünglich für den Einsatz in Frischblut konzipierten Tests erfolgreich zur Detektion von Cannabinoiden und Cocain/Cocainmetaboliten in Serumproben eingesetzt werden können. Die gemessenen Daten ergaben eine Möglichkeit der Gerätekalibration auf Basis von THC-COOH bzw. Benzoyllecgonin. Grenzwerte für die positiv-negativ-Entscheidung mittels P.I.A.² wurden durch Vergleich mit Ergebnissen der massenspektrometrischen Bestätigungsanalysen ermittelt.

Die Cocain-Konzentration ist im Blut aufgrund der kurzen Halbwertszeit deutlich niedriger als die Benzoyllecgonin-Konzentration [8]. Die Benzoyllecgonin-Konzentration ist abhängig von der aufgenommenen Menge Cocain und der verstrichenen Zeit zwischen Konsum und Blutentnahme. Bei höheren Benzoyllecgonin-Konzentrationen im Blut ist es wahrscheinlicher, dass Cocain noch im Blut vorhanden ist.

Obwohl im Blut THC und THC-COOH nicht korrelieren, ist bei hohen THC-COOH-Konzentrationen - meist aufgrund von regelmäßigem oder zeitnaheem Cannabiskonsum, die Wahrscheinlichkeit grösser, THC in einer Konzentration von $\geq 1,5$ ng/ml im Blut vorzufinden.

Wie bereits früher für Urin beschrieben [9] kann somit über die empirische Einstellung einer Entscheidungsgrenze - durch Hinzuziehung von Ergebnissen von Bestätigungsanalysen - für Serum mit dem P.I.A.² Messgerät ein Cannabis-Konsum mit der Genauigkeit von 100 % bzw. ein Cocain-Konsum von 97,9 % erfasst werden. Die P.I.A.² Screening Testleistung ist somit mit bekannten immunologischen Methoden auf Laborautomaten vergleichbar [10] und hat

zusätzlich den Vorteil einer einfachen und schnellen Testdurchführung, die direkt vor Ort bei der Probennahme erfolgen kann.

Tab. 1, links: Vierfeldertafel P.I.A.² THC zur Berechnung der Leistungsparameter, Cut-off: 2 Mio. Volumeneinheiten/ 3 ng/ml THC-COOH (im Serum nach Kalibration durch Rodbard-Funktion) - Detektion des Konsums von Cannabis in Blut (THC-COOH > 3 ng/ml in Blut / LC-MS/MS). Rechts: Vierfeldertafel P.I.A.² THC zur Berechnung der Leistungsparameter mit einem Cut-off von 40.000 „Volumen“-Einheiten bzw. 22 ng/ml THC-COOH (im Serum nach Kalibration durch Rodbard-Funktion) - nur für die Erfassung von Fällen gemäß ASTRA-Weisungen (THC > 1,5 ng/ml mit LC-MS/MS im Blut)

P.I.A. ² THC Cannabis Konsum				P.I.A. ² THC gemäß ASTRA-Weisungen			
RP	FP	Sensitivität ⁱ⁾	100 %	RP	FP	Sensitivität	72,7 %
53	0	Spezifität ⁱⁱ⁾	100 %	24	6	Spezifität	80 %
0	10	Genauigkeit ⁱⁱⁱ⁾	100 %	9	24	Genauigkeit	76,1 %
FN	RN			FN	RN		

(Für alle Tabellen: RP = richtig-positiv, FP = falsch-positiv, FN = falsch-negativ, RN = richtig-negativ)

Tab. 2, links: Vierfeldertafel P.I.A.² Cocain zur Berechnung der Leistungsparameter mit Cut-off 3 Mio. Volumeneinheiten bzw. 6 ng/ml Benzoylcegonin (im Serum nach Kalibration durch Rodbard-Funktion) in Bezug auf die Erfassung von Cocain-Metabolite > 10 ng/ml in Blut (GC-MS). Rechts: Vierfeldertafel P.I.A.² Cocain zur Berechnung der Leistungsparameter mit Cut-off 100.000 „Volumen“-Einheiten bzw. 230 ng/ml Benzoylcegonin (im Serum nach Kalibration durch Rodbard-Funktion) - zur Erfassung der Fälle gemäß ASTRA-Weisungen > 15 ng/ml Cocain im Blut (GC/MS)

P.I.A. ² COC Cocain Konsum				P.I.A. ² COC gemäß ASTRA-Weisungen			
RP	FP	Sensitivität	97,6 %	RP	FP	Sensitivität	81,3 %
41	0	Spezifität	100 %	13	4	Spezifität	87,5 %
1	6	Genauigkeit	97,9 %	3	28	Genauigkeit	85,4 %
FN	RN			FN	RN		

ⁱ⁾ Die Sensitivität eines Tests gibt die Wahrscheinlichkeit an, mit der ein richtig-positives Ergebnis erhalten wird, wenn - im Gegensatz bzw. im Vergleich zu einer Referenzgruppe oder mit dem Goldstandard - die betroffene Personengruppe oder Bevölkerung mit dem zu evaluierenden Test untersucht wird. Sensitivität = $RP/(RP + FN)$.

ⁱⁱ⁾ Die Spezifität eines Tests entspricht der Wahrscheinlichkeit, mit der ein Test ein richtig-negatives Ergebnis erbringt, wenn man ihn auf die betroffene Personengruppe anwendet. Spezifität = $RN/(RN + FP)$.

ⁱⁱⁱ⁾ Die Genauigkeit ist die Wahrscheinlichkeit, mit welcher der Test richtig angibt, ob bei einer Person eine bestimmte Eigenschaft oder ein sonstiges Merkmal vorliegt oder nicht. Die Aussage der Genauigkeit in Bezug auf die Einstufung der Testleistung ist eingeschränkt, da sie von der Prävalenz einer Eigenschaft in der betreffenden Population abhängt. Genauigkeit = $(RP + RN)/(\text{Gesamtzahl aller Proben})$.

Das gerätebasierte Analysensystem bietet je nach Konfiguration bzw. Einstellung der entsprechenden Entscheidungsgrenze, einerseits die Möglichkeit zur Detektion von Drogenkonsum, und im besonderen Fall auch die Erfassung Verkehrsrechts-relevanter Drogenkonzentrationen, z.B. in Bezug auf die ASTRA-Weisungen gemäß Art. 2.2 VRV der Schweiz THC > 1,5 ng/ml im Blut (gleichbedeutend mit 2,3 ng/ml im Serum) bzw. Cocain > 15 ng/ml im Blut. Die Berechnungen anhand der Vierfeldertafel ergaben eine Genauigkeit von 76,1 % bzw. 85,4 % mit der THC und Cocain in der Blutprobe > 1,5 ng/ml bzw. 15 ng/ml erfasst werden würden. Im Vergleich dazu eignet sich Speichel weniger gut, um nach Einstellung einer optimalen Entscheidungsgrenze für THC bzw. Cocain auf bestimmte Konzentrationen im Blut zu schließen [11].

P.I.A.² Bluttests für Cannabinoide und Cocain sind schnelle und einfach zu handhabende Tests, die als zuverlässige und zugleich standardisierte Vorort-Screening Methode geeignet

sind. Sie ermöglichen es, Drogenrückstände in Blut im Sinne medizinischer oder polizeilicher Fragestellungen ohne die Möglichkeit einer Manipulation der Matrix (im Gegensatz zum Urin) zu detektieren und zu entscheiden, ob eine weiterführende Bestätigungsuntersuchung indiziert ist. Nichtsdestotrotz ist je nach Einsatz der Tests in Bezug auf bestimmte Blutgrenzwerte eine Abwägung zu treffen, ob eher falsch negative Ergebnisse (geringere Sensitivität), die z. B. ein Sicherheitsrisiko im Straßenverkehr darstellen, oder eher falsch positive Ergebnisse (geringere Spezifität), die erhöhte Folgekosten durch zusätzliche Analysen und administrativen Aufwand verursachen, zugelassen werden.

Nach den vorliegenden Ergebnissen wäre nun eine Pilotstudie mit Frischblut unter Realbedingungen wünschenswert.

Tab. 3. Evaluierung des P.I.A.² THC-Schnellteststreifen für Blutserum: Messdaten P.I.A.², Ergebnisanzeige P.I.A.² für die Erfassung von Cannabis-Konsum und LC-MS/MS-Messwerte der Cannabinoide im Blut. Umrechnung auf THC-COOH im Serum durch Multiplikation mit 1,7. Immunologische Zielsubstanz: 11-nor-9-carboxy- Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC-COOH).

Probennr.	P.I.A. ² - THC-Bluttest			LC-MS/MS Bestimmung in Blut (ng/mL)				Umrechnung
	Kontroll- linie	Testlinie	Ergebnis Anzeige	THC-COOH	11-0H-THC	THC	Summe	1,7 THC-COOH in Serum
11	9.015.762	0	Positiv	28	2,5	12	42,5	47,6
12	9.952.157	0	Positiv	73	2,3	3,1	78,4	124,1
13	6.257.313	0	Positiv	33	2,2	3,9	39,1	56,1
14	9.816.848	0	Positiv	58	4,2	16	78,2	98,6
17	6.277.411	0	Positiv	23	0	1,1	24,1	39,1
21	6.854.342	0	Positiv	21	0,5	4,3	25,8	35,7
23	9.202.659	0	Positiv	21	0	2,3	23,3	35,7
35	6.546.514	0	Positiv	17	0,5	3,2	20,7	28,9
39	9.644.238	0	Positiv	82	4,7	6,8	93,5	139,4
43	7.632.876	0	Positiv	24	0	1,3	25,3	40,8
44	7.109.592	0	Positiv	29	2,3	5,7	37	49,3
47	7.947.555	0	Positiv	43	1,3	6,3	50,6	73,1
48	7.871.338	0	Positiv	62	3,2	11	76,2	105,4
49	8.384.671	0	Positiv	93	7,8	11	111,8	158,1
50	8.146.990	0	Positiv	44	3,3	5,3	52,6	74,8
52	7.786.203	0	Positiv	22	3,4	8,3	33,7	37,4
53	152.163	0	Positiv	22	0,5	1,4	23,9	37,4
56	6.293.046	0	Positiv	19	0,5	2,4	21,9	32,3
59	7.869.441	0	Positiv	19	1,4	3	23,4	32,3
60	10.703.431	0	Positiv	32	2,4	9,5	43,9	54,4
61	7.509.664	0	Positiv	15	0,5	1,9	17,4	25,5
22	9.724.127	4.094	Positiv	24	0	1,4	25,4	40,8
54	6.877.160	4.309	Positiv	29	0,5	3,6	33,1	49,3
29	8.714.723	11.082	Positiv	23	1,4	3,5	27,9	39,1
31	6.484.584	11.258	Positiv	18	1	1,4	20,4	30,6
20	9.245.969	17.632	Positiv	25	1	2,3	28,3	42,5
51	7.310.225	18.639	Positiv	17	0,5	1,6	19,1	28,9
63	8.419.489	36.117	Positiv	34	2,2	2,8	39	57,8
30	8.898.031	37.771	Positiv	23	1,4	3,4	27,8	39,1
34	8.710.774	38.732	Positiv	12	0	1,2	13,2	20,4
41	9.155.705	72.860	Positiv	15	0	0,5	15,5	25,5
42	8.037.581	74.745	Positiv	19	0	1,6	20,6	32,3
26	11.811.332	130.231	Positiv	24	0	1,4	25,4	40,8
46	8.235.460	135.624	Positiv	14	0	0,5	14,5	23,8
57	8.443.521	138.572	Positiv	15	0	0,5	15,5	25,5
32	10.091.747	170.759	Positiv	14	0,5	1,1	15,6	23,8
58	10.947.798	204.775	Positiv	50	5,1	16	71,1	85
16	11.532.237	221.223	Positiv	15	3,6	6,7	25,3	25,5

(Fortsetzung) P.I.A. ² - THC-Bluttest				LC-MS/MS Bestimmung in Blut (ng/mL)				Umrechnung 1,7
Probennr.	Kontroll- linie	Testlinie	Ergebnis Anzeige	THC-COOH	11-OH-THC	THC	Summe	THC-COOH in Serum
18	9.265.102	244.246	Positiv	14	0,5	2,2	16,7	23,8
15	8.643.384	338.941	Positiv	10	3,8	6,2	20	17
55	4.902.553	341.424	Positiv	8,6	0,5	1,1	10,2	14,62
28	9.969.030	433.842	Positiv	12	0	1,3	13,3	20,4
36	8.674.889	486.317	Positiv	8,3	1,1	3,4	12,8	14,11
45	8.487.657	722.565	Positiv	6,4	0	1,6	8	10,88
40	8.328.202	735.795	Positiv	5	0	0	5	8,5
19	8.493.651	822.743	Positiv	11	0	1,3	12,3	18,7
37	9.159.029	868.727	Positiv	5	0	0,5	5,5	8,5
27	11.545.634	1.069.894	Positiv	7,4	0,5	1,8	9,7	12,58
62	5.910.376	1.498.613	Positiv	7,9	0	0	7,9	13,43
33	10.010.020	1.551.285	Positiv	6,4	0	0	6,4	10,88
24	9.704.814	1.557.493	Positiv	7,7	0,5	1,7	9,9	13,09
25	8.098.395	1.682.081	Positiv	3	0	0,5	3,5	5,1
38	8.710.923	1.713.415	Positiv	6,1	0	1	7,1	10,37

P.I.A. ² - THC-Bluttest				LC-MS/MS Bestimmung in Blut (ng/ml)				
Probennr.	Kontroll- linie	Testlinie	Ergebnis Anzeige	THC-COOH	THC-OH	THC	Summe	THC-COOH in Serum
2	3.441.138	3.286.193	negativ	0	0	0	0	0
3	8.747.067	3.722.929	negativ	0	0	0	0	0
6	6.572.450	5.701.916	negativ	0	0	0	0	0
1	6.928.652	5.843.188	negativ	0	0	0	0	0
8	9.003.275	8.046.762	negativ	0	0	0	0	0
5	7.036.991	8.217.024	negativ	0	0	0	0	0
4	7.022.014	8.281.987	negativ	0	0	0	0	0
10	8.606.432	8.378.859	negativ	0	0	0	0	0
9	8.884.575	9.520.252	negativ	0	0	0	0	0
7	8.702.695	10.026.535	negativ	0	0	0	0	0

Tab. 4. Evaluierung des P.I.A.² COC-Teststreifens für Blutserum: Messdaten P.I.A.², Ergebnisanzeige P.I.A.² für die Erfassung für Cocain-Konsum, GC/MS-Messwerte für Cocain und Cocain-Metabolite. Immunologische Zielsubstanz: Benzoyllecgonin.

P.I.A. ² COC-Bluttest				GC/MS-Bestimmung in Blut (ng/ml)			
Probennr.	Kontrolllinie	Testlinie	Ergebnis Anzeige	Benzoyllecgonin	Ecgonin- methylester	Cocain	Summe
6	5322536	0	positiv	1899	354	109	2362
17	4966270	0	positiv	407	47	49	503
19	4175264	0	positiv	732	46	89	867
25	84024	0	positiv	235	29	0	264
28	5021176	0	positiv	1181	148	47	1376
35	4717890	0	positiv	1582	334	331	2247
37	493232	0	positiv	206	25	0	231
38	4683922	0	positiv	532	98	152	782
5	5201411	1196	positiv	514	55	30	599
26	5404520	14593	positiv	514	91	137	742
40	4830763	20267	positiv	281	52	18	351
42	4450195	26648	positiv	401	38	0	439
14	7239501	28262	positiv	694	85	72	851
27	2513500	28324	positiv	550	106	334	990
2	5312840	30191	positiv	184	38	22	244
39	4302608	34635	positiv	205	29	11	245
29	6203620	64726	positiv	358	31	95	484
24	5475777	118478	positiv	206	24	0	230
20	2826896	140564	positiv	140	15	18	173
7	5291346	142170	positiv	303	46	0	349
31	3938951	155706	positiv	99	0	0	99

(Fortsetzung) P.I.A. ² COC-Bluttest				GC/MS-Bestimmung in Blut (ng/ml)			
Probennr.	Kontrolllinie	Testlinie	Ergebnis Anzeige	Benzoyllecgonin	Ecgonin-methylester	Cocain	Summe
4	8101044	156180	positiv	335	28	88	451
22	7508750	166305	positiv	162	15	0	177
36	3177134	201909	positiv	83	0	0	83
33	3825631	266698	positiv	70	0	0	70
21	6305555	278089	positiv	114	0	0	114
30	5441490	289661	positiv	141	0	0	141
34	5405239	368219	positiv	95	0	20	115
10	5141153	471469	positiv	59	0	0	59
9	4657193	546022	positiv	56	0	0	56
11	6026117	572561	positiv	53	0	0	53
1	5755720	576611	positiv	21	0	0	21
23	4763307	853956	positiv	17	0	0	17
3	4189257	948093	positiv	13	0	0	13
8	5011470	1614160	positiv	14	0	0	14
13	6230096	1653166	positiv	5	0	0	5
41	5028195	1720406	positiv	5	0	0	5
12	3854119	1855587	positiv	102	0	0	102
16	5730220	1943557	positiv	30	10	0	40
18	9470651	2011534	positiv	5	0	0	5
32	5161839	2020406	positiv	5	0	0	5

P.I.A. ² COC-Bluttest				GC/MS-Bestimmung in Blut (ng/ml)			
Probennr.	Kontrolllinie	Testlinie	Ergebnis Anzeige	Benzoyllecgonin	Ecgonin-methylester	Cocain	Summe
15	4500283	3066175	negativ	10	0	0	10
43	4238176	3115826	negativ	0	0	0	0
44	3946075	3459611	negativ	0	0	0	0
45	4086463	3994020	negativ	0	0	0	0
46	4086463	3994020	negativ	0	0	0	0
47	5131934	4044895	negativ	0	0	0	0
48	9747581	4092039	negativ	0	0	0	0

6. Literatur

- [1] Verstraete AG. Detection times of drugs of abuse in blood, urine, and oral fluid. *Ther Drug Monit* 2004;26:200-205.
- [2] Moeller MR, Steinmeyer S, Kraemer T. Determination of drugs of abuse in blood. *J Chromatogr B Biomed Sci App* 1998;713:91-109.
- [3] Moeller MR, Kraemer T. Drugs of abuse monitoring in blood for control of driving under the influence of drugs. *Ther Drug Monit* 2002;24:210-225.
- [4] Zhu J, Zou N, Zhu D, Wang J, Jin Q et al. Simultaneous detection of high-sensitivity cardiac troponin I and myoglobin by modified sandwich lateral flow immunoassay: proof of principle. *Clin. Chem.* 2011 ;57 ;1732-1738.
- [5] Laderman EI, Whitworth E, Dumaual E, Jones M, Hudak A et al. Rapid, sensitive, and specific lateral-flow immunochromatographic point-of-care device for detection of herpes simplex virus type 2-specific immunoglobulin G antibodies in serum and whole blood. *Clin Vaccine Immunol* 2008;15:159-163.
- [6] König S, Aebi B, Lanz S, Gasser M, Weinmann W. On-line SPE LC-MS/MS for the quantification of Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC) and its two major metabolites in human peripheral blood by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem* 2011;400:9-16.
- [7] Giroud C, Ménétrey A, Augsburg M, Buclin T, Sanchez-Mazas P, Mangin P. Delta(9)-THC, 11-OH-Delta(9)-THC and Delta(9)-THCCOOH plasma or serum to whole blood concentrations distribution ratios in blood samples taken from living and dead people. *Forensic Sci Int* 2001;123:159-164.
- [8] Jones AW, Holmgren A, Kugelberg FC. Concentrations of cocaine and its major metabolite benzoyllecgonine in blood samples from apprehended drivers in Sweden. *Forensic Sci Int* 2008;177:133-139.
- [9] Haisser J, Tiemann B, Protzek C, Böttcher M, Aderjan R. Quantification of 11-nor-9-carboxy- Δ^9 -tetrahydrocannabinol (CTHC) equivalents in urine using instrumentally read gold-labeled lateral flow immunoassay (IRGLFIA) in order to predict THC in serum ≥ 1 ng/mL. *Toxichem Krimtech* 2011;78:332.
- [10] Kirschbaum KM, Musshoff F, Schmithausen R, Stockhausen S, Madea B. Optimization and validation of CEDIA drugs of abuse immunoassay tests in serum on Hitachi 912. *Forensic Sci Int* 2011;212:252-255.
- [11] Gjerde H, Langel K, Favretto D, Verstraete AG. Detection of illicit drugs in oral fluid from drivers as biomarker for drugs in blood. *Forensic Sci Int* 2015;256:42-45.