

Aus dem

Akademischen Lehrkrankenhaus der Universität Tübingen

Klinikum Stuttgart – Katharinenhospital – Zentralinstitut für  
Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin mit Laborpraxis

**Vergleich einer qualitativen immunologischen Methode mit  
einer qualitativen LC-MS-Methode in Urinproben zur  
Überprüfung der Benzodiazepinentgiftungstherapie mit  
Oxazepam bei opioidabhängigen  
Patienten**

**Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard-Karls-Universität  
zu Tübingen**

**vorgelegt von**

**Martin, Sonja**

**2024**

Dekan: Professor Dr. B. Pichler  
1. Berichterstatter: Professor Dr. E. Wieland  
2. Berichterstatter: Professorin Dr. L. Danielyan

Tag der Disputation: 15.02.2024

Meinen Eltern

## **Inhaltsverzeichnis:**

<b>1. Einleitung</b>	<b>12</b>
1.1 Stationäre Entgiftungsbehandlung Opioidabhängiger	12
1.1.1 Richtlinie zur Durchführung der substitutionsgestützten Behandlung Opioidabhängiger	12
1.1.2 Therapieziele der substitutionsgestützten Behandlung	12
1.1.3 Durchführung der substitutionsgestützten Behandlung einschließlich der Kontrollen von Beikonsum	13
1.1.4 Motive zum Benzodiazepinbeigebrauch	15
1.1.5 Benzodiazepine zur Entgiftungsbehandlung	16
1.2 Benzodiazepine	17
1.2.1 Substanzen	17
1.2.2 Metabolismus der gängigsten Benzodiazepine	19
1.2.3 Pharmakodynamik	20
1.2.4 Pharmakokinetik	20
1.2.4.1 Einteilung der Benzodiazepine nach Resorptionsgeschwindigkeit	20
1.2.4.2 Einteilung der Benzodiazepine nach Eliminationshalbwertszeiten	21
1.2.5 Abhängigkeit und Entzug	21
1.3 Entgiftungstherapie mit einer kontrollierten Oxazepamgabe	23
1.4 Urinkontrollen	23
1.4.1 Immunoassays	24
1.4.1.1 Gruppentests	24
1.4.1.2 Einzelsubstanzen	25
1.4.1.3 LC-MS-Verfahren	26
1.4.1.3.1 Ionenfalle (Toxyper)	26
1.4.1.3.2 Triple-Quadrupol	27
<b>2. Fragestellung</b>	<b>28</b>
<b>3. Patienten und Methoden</b>	<b>28</b>

3.1	Patientenkollektiv	28
3.2	Therapieregime	28
3.3	Probensammlung	29
3.4	Messmethoden	29
3.4.1	Immunchemischer Gruppentest	29
3.4.2	Qualitative Analyse von Medikamenten und Drogen im Urin Flüssigchromatographie und massenspektrometrischer Detektion mit einer Toxtyper Ionenfalle	32
3.4.3	Semiquantitative Analyse von Benzodiazepinen im Urin mittels Triple-Quadrupol-Massenspektrometrie	35
3.4.4	Kreatininbestimmung und Quotient zum Signal der Benzodiazepinmethoden	38
3.5	Darstellung der Daten und statistische Auswertung	38
<b>4.</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>40</b>
4.1	Darstellung des polytoxikomanes Patientenkollektiv	40
4.1.1	Somatische Komorbiditäten	40
4.1.2	Laborparameter	41
4.1.3	Psychiatrische Komorbiditäten	43
4.2	Zeitpunkte der Probensammlung und Anzahl der Patienten	43
4.3	Zusätzliche Substanzen in den Eingangsurinen	45
4.4	Benzodiazepin-Beigebrauch im Eingangsscreening	47
4.5	Verlauf der Signalhöhen im Immunoassay im Patientenkollektiv	47
4.6	Semiquantitativer Verlauf der Mittelwerte der LC-MS- Signale aller Benzodiazepine im Patientenkollektiv	48
4.7	Vergleich Mediane der Signale im Immunoassay und der LC-MS	49
4.8	Semiquantitativer Verlauf der Einzelbenzodiazepine gemessen mit der LC-MS-Methode im Kollektiv	52
4.8.1	Semiquantitativer Verlauf der Oxazepam-Signal- stärke	52

4.8.2	Semiquantitativer Verlauf der Diazepam-Signalsstärke	54
4.8.3	Semiquantitativer Verlauf der Nordiazepam-Signalsstärke	55
4.8.4	Semiquantitativer Verlauf der Temazepam-Signalsstärke	56
4.8.5	Semiquantitativer Verlauf der Lorazepam-Signalsstärke	57
4.8.6	Semiquantitativer Verlauf der Alprazolam-Signalsstärke	58
4.8.7	Semiquantitativer Verlauf der Bromazepam-Signalsstärke	59
4.8.8	Semiquantitativer Verlauf der Flunitrazepam-Signalsstärke	60
4.9	Vergleich der Benzodiazepinmessung mit dem Immunoassay und der LC-MS unter Oxazepamentgiftung	60
4.9.1	Vergleich der Mittelwerte aus beiden Methoden	60
4.9.2	Vergleich der Immunoassaysignale mit der Oxazepam-LC-MS bei allen Patienten	62
4.9.3	Vergleich des Quotienten Gesamt-LC-MS/Immunoassay zu Quotient Oxazepam-LC-MS	64
4.9.4	Methodenvergleich Immunoassay gegen LC-MS nach Passing & Bablok	65
4.10	Vergleich Signal Immunoassay versus LC-MS für Oxazepam bei ausgewählten Individuen	68
4.10.1	Patient 1	68
4.10.2	Patient 27	73
4.10.3	Patient 15	75
4.10.4	Patient 31	79
<b>5.</b>	<b>Diskussion</b>	<b>83</b>
5.1	Patientenkollektiv	83
5.1.2	Zusätzliche Substanzen in Eingangsdrogenurinen	84

5.1.3 Überprüfung der Compliance während der Oxazepamentgiftung	84
5.2 Bedeutung der Compliancekontrolle	89
5.3 Bewertung der Ergebnisse	90
<b>6. Ausblick</b>	<b>95</b>
<b>7. Zusammenfassung</b>	<b>95</b>
<b>8. Literatur</b>	<b>97</b>
<b>9. Anhang des untersuchten Patientenkollektives</b>	<b>107</b>
<b>10. Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift</b>	<b>117</b>
<b>11. Veröffentlichung</b>	<b>118</b>
<b>12. Danksagungen</b>	<b>119</b>

## **Abbildungsverzeichnis:**

Abb. 1: Metabolismus der wichtigsten Benzodiazepine	18
Abb. 2: Anzahl und Zeitpunkte der Urinsammlung	44
Abb. 3: Die einzelnen Benzodiazepine gemessen mit dem LC-MS-Verfahren in den Eingangsurinen im Gesamt-Patienten-Kollektiv	47
Abb. 4: Mittelwerte Signalstärken im Benzodiazepin-Gruppentest zu den einzelnen Untersuchungszeitpunkten	48
Abb. 5: Mittelwerte Signalstärke mit der LC-MS zu den einzelnen Untersuchungszeitpunkten	49
Abb. 6: Median (25.-75. Perzentile) der Signalstärke des Immuno- assays zu den einzelnen Untersuchungszeitpunkten	50
Abb. 7: Median (25.-75. Perzentile) der Signalstärke aller Benzodiazepine mit der LC-MS zu den einzelnen Untersuchungszeitpunkten	51
Abb. 8: Median (25.-75. Perzentile) der Oxazepam Signalstärke mit der LC-MS zu den einzelnen Untersuchungszeitpunkten	52
Abb. 9: Mittelwerte des Oxazepamsignals in der LC-MS zu den einzelnen Untersuchungszeitpunkten	53
Abb. 10: Mittelwert des Diazepamsignals in der LC-MS zu den einzelnen Untersuchungszeitpunkten	54
Abb. 11: Mittelwerte der Signalstärke in der Nordiazepam-LC-MS zu den einzelnen Untersuchungszeitpunkten	56
Abb. 12: Mittelwerte der Signalstärke in der Temazepam-LC-MS zu den einzelnen Untersuchungszeitpunkten	57
Abb. 13: Mittelwerte der Signalstärke in der Lorazepam-LC-MS zu den einzelnen Untersuchungszeitpunkten	58
Abb. 14: Mittelwerte der Signalstärke in der Alprazolam-LC-MS zu den einzelnen Untersuchungszeitpunkten	59
Abb. 15: Mittelwerte der Signalstärke in der Bromazepam-LC-MS zu den einzelnen Untersuchungszeitpunkten	59

Abb. 16: Mittelwerte der Signalstärke in der Flunitrazepam-LC-MS zu den einzelnen Untersuchungszeitpunkten_____	60
Abb. 17: Kumulierte Signalstärken im Immunoassay je Patient über alle Messungen_____	62
Abb. 18: Kumulierte Signalstärken in der Oxazepam- LC-MS je Patient über alle Messungen_____	63
Abb. 19: Vergleich des Quotienten Gesamt-LC-MS/Immunoassay zu Quotient Oxazepam-LC-MS/Immunoassay_____	64
Abb. 20: Korrelation Signal Immunoassay zu Gesamt-LC-MS- Signal_____	65
Abb. 21: Korrelation Signal Immunoassay zu Oxazepam LC-MS-Signal _____	66
Abb. 22: Vergleich Signale Immunoassay mit Signalen Oxazepam LC-MS bei Patient 1_____	68
Abb. 23: Signalstärke Oxazepam LC-MS bei P1_____	68
Abb. 24: Signalstärke im Immunoassay bei P1_____	69
Abb. 25: Quotient Signal LC-MS/Immunoassay bei P1_____	70
Abb. 26: Vergleich Signale Immunoassay (IA) mit Signalen der LC-MS bei P27_____	71
Abb. 27: Signalstärke Oxazepam LC-MS bei P27_____	72
Abb. 28: Signalstärke im Immunoassay bei P27_____	73
Abb. 29: Quotient Signal LC-MS/Immunoassay bei P27_____	74
Abb. 30: Vergleich Signale Immunoassay (IA) mit Signalen der LC-MS bei P15_____	75
Abb. 31: Signalstärke Oxazepam LC-MS bei P15_____	76
Abb. 32: Signalstärke im Immunoassay bei P15_____	77
Abb. 33: Quotient Signal LC-MS/Immunoassay bei P15_____	78
Abb. 34: Vergleich Signale Immunoassay (IA) mit Signalen der LC-MS bei P31_____	79
Abb. 35: Signalstärke Oxazepam LC-MS bei P31_____	80
Abb. 36: Signalstärke im Immunoassay bei P31_____	81
Abb. 37: Quotient Signal LC-MS/Immunoassay bei P31_____	82

## **Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1: Endkonzentrationen der Positivkontrollen	32
Tabelle 2: Nachweisgrenzen	33
Tabelle 3: Messung der Analyten gemäß ihrer Massenübergangssignale	34
Tabelle 4: Messbereiche der jeweiligen Benzodiazepine	35
Tabelle 5: Somatische Erkrankungen	39
Tabelle 6: Leber- und Nierenwerte im Eingangslabor	40
Tabelle 7: Psychiatrische Komorbiditäten	42
Tabelle 8: Zusätzliche Substanzen in Eingangsurine mit ambulant ärztlich verordneter Medikation	45

### **Abkürzungsverzeichnis:**

#### **A**

ALT Alanin-Aminotransferase

#### **B**

BAS Bayerische Akademie für Suchtfragen

BÄK Bundesärztekammer

BtMVV Betäubungsmittel-Verschreibungsverordnung

#### **C**

CYP Cytochrom P450

#### **D**

DOAL Drugs of Abuse Library

#### **G**

GABA Gammaaminobuttersäure

GKV Gesetzliche Krankenversicherung

GGT Gamma-Glutamyl-Transferase

GFR Glomeruläre Filtrationsrate

GPT Glutamat-Pyruvat-Transaminase

#### **H**

HWZ Halbwertszeit

#### **L**

LC-MS Liquid (Flüssig)-Chromatografie mit Massenspektrografie Koppelung

LC-MS-Signalstärke Fläche unter dem Messsignal in der massenspektrometrischen Auswertung

#### **R**

REM Rapid Eye Movement bei Schlafphase

RL Richtlinie

$r_s$  Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman

#### **S**

Signalhöhe im IA entspricht  $\mu\text{g}$  Benzodiazepinäquivalente pro Liter

#### **U**

UGT Uridin-Diphospho-Glycosyltransferase

## **1. Einleitung**

### **1.1 Stationäre Entgiftungsbehandlung Opioidabhängiger**

Polytoxikomane Patienten, die sich einer stationären substitutionsgestützten oder vollständigen Entgiftungstherapie unterziehen, werden regelmäßig hinsichtlich ihrer Compliance zur Einnahme des Substitutionsmittels und zum Ausschluss des Beigebrauchs verbotener Substanzen überwacht. Dies ist Bestandteil des Therapievertrages, dem jeder Patient vor Beginn der stationären Behandlung durch seine Unterschrift zustimmt.

#### **1.1.1 Richtlinien zur Durchführung der substitutionsgestützten Behandlung Opioidabhängiger**

Die Richtlinien der substitutionsgestützten Behandlung wurden 2017 durch die Bundesärztekammer und durch den Gemeinsamen Bundesausschuss im Dezember 2018 zu Lasten der GKV nach § 12 Abs. 1 Sozialgesetzbuch V in Kraft gesetzt. Die gesetzliche Grundlage ist im §5 des BtMVV „Substitution, Verschreiben von Substitutionsmitteln“ geregelt. Wie in dem Artikel „Substitutions-Richtlinie der Bundesärztekammer: „Basis für eine bessere Versorgung“ von Kunstmann et al. im deutschen Ärzteblatt von 2019 wurde angeführt, dass den Opioidabhängigen der Zugang zur Substitution erleichtert sowie weitere ehemalige formale Hürden abgebaut wurden. Nach dieser Neuregelung dürfen niedergelassene Ärzte auch ohne suchtspezifische Qualifikation bis zu zehn Patienten substituieren, vor der Novellierung waren es maximal drei Patienten, die jedoch einmal im Quartal bei Substitutionsärzten vorstellig werden müssen (§ 5 Abs. 3 Satz 2 BtMVV). An Substitutionsmittel darf ausschließlich ein zur Substitution zugelassenes Arzneimittel verordnet werden, welches kein Diamorphin enthält [...] (§ 5 Abs. 6 BtMVV). Dies sind Levomethadon, Methadon, Buprenorphin, retardiertes Morphin sowie in begründeten Ausnahmefällen Codein und Dihydrocodein (§ 5 Abs. 6 BtMVV). Die Substitution mit Diamorphin,

welche seit 2009 in Deutschland zugelassen ist, obliegt schweren Opiatabhängigen, deren Kriterien in § 5a Absatz 1 Satz 2 Nummer 2 bis 4 BtMVV festgelegt sind, und einer suchtspezifischen Facharztbehandlung vorbehalten ist.

#### **1.1.4 Therapieziele der substitutionsgestützten Behandlung**

Die Opioidabhängigkeit stellt eine schwere chronische Krankheit dar (RL der BÄK Kap. 1). Sie benötigt daher oft einer langjährige, zum Teil eine lebenslange, Behandlung, bei der körperliche, psychische und soziale Aspekte gleichermaßen zu berücksichtigen sind. Die substitutionsgestützte Behandlung hat sich als Therapieverfahren etabliert und stellt für einen großen Anteil der opioidabhängigen Patienten die Therapie der ersten Wahl dar (RL der BÄK Kap.1). Gemäß dem Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte/Substitutionsregister im Bericht zum Substitutionsregister Januar 2021 befanden sich am 01.07.2020 81.300 Patienten in Substitutionsbehandlung von geschätzten 166.000 Opioidabhängigen bei einem gleichzeitigen leichten Anstieg der Patientenzahl und abnehmender Anzahl von substituierenden Ärzten. Während früher die Substitution eher als Zwischenschritt bei Opiatabhängigkeit angesehen wurde, konnte in der PREMOS Studie von 2011 von Wittchen et al. festgestellt werden, dass eine langfristige Opiatabstinenz bei < 4 % erzielt werden konnte. Daher haben sich im Verlauf der Jahre die Ziele der substitutionsgestützten Behandlung verändert, welche im § 5 Abs. 2 BtMVV sowie ärztlich in der RL der BÄK in Kap 1. definiert wurden. Die unmittelbare und erstrangige Anforderung an eine Substitution besteht zunächst in der Sicherstellung des Überlebens, welches ständig durch das Risiko einer Überdosierung/Mischintoxikation oder durch Zusatzstoffe in den Drogen gefährdet ist ([www.drugcom.de/news/kaum-heroin-in-heroin](http://www.drugcom.de/news/kaum-heroin-in-heroin) vom 20.04.2018). Durch die Substitution kommt es bei einem großen Teil der Patienten zu einer allmählichen Verbesserung und Stabilisierung des körperlichen und psychischen Gesundheitszustandes. Dies ist oft mit einer allgemeinen Reduktion/Abstinenz von unerlaubten Opiaten bzw. eines Beikonsums diverser anderer Substanzen

wie Benzodiazepinen verbunden. Zeitgleich kann eine Behandlung somatischer und psychischer Begleiterkrankungen erfolgen. Insgesamt sollte die substitions-gestützte Therapie zu einer Verbesserung der gesundheitsbezogenen Lebensqualität und einer Reduktion der Straffälligkeit führen sowie letzten Endes Teilhabe am Leben in der Gesellschaft und am Arbeitsleben ermöglichen (§ 5 Abs. 2 BtMVV und in der RL der BÄK in Kap. 1). Die Therapieziele werden gemäß dem aktuellen psychischen, physischen und sozialen Stand des jeweiligen Patienten mit dem substituierenden Arzt definiert (BÄK-RL Kap. 3.2). Diese Ziele können im Verlauf patientenorientiert angepasst werden (BÄK-RL Kap. 4).

### **1.1.3 Durchführung der substitions-gestützten Behandlung einschließlich der Kontrollen von Beikonsum**

Nach nachgewiesener Opiatabhängigkeit unter anderem durch einen positiven Opiatbefund im Urin beginnt die Substitutionseinstellungsphase mit der täglichen Einnahme des Substituts entweder unter Sicht in der Arztpraxis oder in der Apotheke (BÄK-RL Kap. 4 und BAS Kap. 1.1.3). Initial ist ein Beikonsum diverser anderer Substanzen sowie Alkohol nicht unüblich. Dies muss thematisiert und dokumentiert werden (BAS Kap. 4.4.4). Erst im Verlauf bei stabiler Substitution sollte dieser Beikonsum rückläufig sein. Dies wird einerseits durch den klinischen Eindruck als auch durch regelmäßige unangekündigte Urinkontrollen überprüft (BAS Kap. 4.4.4). Bei einer nachgewiesenen bzw. sichtbaren Anzeichen einer Intoxikation des Patienten entscheidet der behandelnde Arzt, ob er das Substitut in angepasster Dosierung verabreicht oder ob von einer Verabreichung vollständig abzusehen ist (BÄK-RL Kap. 4). Bei länger andauerndem Konsum von psychotropen Substanzen sollte zunächst die Ursache geklärt und nach Möglichkeiten beseitigt werden. Gründe für einen fortgeführten Beikonsum können dabei psychosoziale Belastungsfaktoren mit psychischer Dekompensation darstellen, aber auch eine insuffiziente Substitution sowie eine Umstellung auf ein anderes Substitutionsmittel sollten in Betracht ge-

zogen werden. Gleichzeitig kann auch eine neu hinzugekommene Substanzabhängigkeit vorliegen. Daher sollte eine enge Zusammenarbeit mit den an der Behandlung bzw. Betreuung beteiligten Berufsgruppen erfolgen. Zudem können eine psychiatrische und gegebenenfalls eine psychotherapeutische Mitbehandlung den Therapieerfolg verbessern (BÄK-RL Kap 3.4). Falls die ambulanten Möglichkeiten zur Beendigung eines Beikonsums nicht ausreichend waren, sollte eine stationäre Beikonsum-Entgiftungsbehandlung stattfinden. Ein Abbruch der Substitution sollte nur als ultima ratio in Erwägung gezogen werden, da dies für die Patienten eine teils lebensgefährliche Situation darstellen kann (BÄK-RL, Kap. 4.2.).

Bei stabil eingestellten Patienten kann im Verlauf eine sogenannte Take-home-Verordnung ausgestellt werden, bei der bis zu einer Woche das Substitut eigenständig vom Patienten eingenommen wird. In Zeiten von Urlaub bzw. in Zeiten von Corona können die zeitlichen Abstände dieser Verordnung ausgedehnt werden. Auch eine psychosoziale und gegebenenfalls psychotherapeutische Behandlung sollte an den gegenwärtigen Erfordernissen angepasst werden (RL der Bundesärztekammer zur Durchführung der substituionsgestützten Behandlung Opioidabhängiger vom 02.10.2017).

#### **1.1.4. Motive zum Benzodiazepinbeigebrauch**

Die Benzodiazepineinnahme von substituierten Patienten ist ein häufiges und teilweise auch gefährliches Problem. Das Thema wird unter anderem in der Stellungnahme „Substitutionsbehandlung Opiatabhängiger hinsichtlich der Problematik der zusätzlichen Einnahme von Benzodiazepinen von der Bayerischen Akademie für Gesundheits- und Suchtfragen“ behandelt.

Das Sterberisiko ist bei einem Konsum von Benzodiazepinen - trotz derer breiter therapeutischer Toleranz - in Kombination mit Substitutionsmitteln dennoch erhöht (BAS 4. Version). Es liegen hierfür speziell für die Vereinigten Staaten Studien zu dem gleichzeitigen Konsum von Opioiden und Benzodiazepinen vor, die nicht selten tödlich verlaufen.

Gemäß der Studie „Polydrug abuse: A review of opioid and benzodiazepine combination us Drug Alcohol Depend“ der Autoren Jones et al. konnten aus der Befragung mit betroffenen Patienten und in der Diskussion mit substituierenden Ärzten einige Hauptmotive zum Benzodiazepin-Beikonsum ermittelt werden wie Erzielung eines verstärkten Rausches, als Selbstmedikation bei psychischen Belastungen sowie Dämpfung von Entzugssymptomen bei unzureichenden Opiatdosierung. In Folge dessen kann sich eine eigenständige Benzodiazepin Abhängigkeit entwickeln.

Auch in der amerikanischen Studie „Benzodiazepine Use and Misuse Among Patients in a Methadone Program“ der Autoren Chen et al. wurde der Missbrauch von Benzodiazepinen bei Patienten im Methadonprogramm untersucht. Dabei stellten sie einen deutlich erhöhten Benzodiazepin-Beikonsum von Methadon-Substituierten fest. Eine mögliche Erklärung wurde mit einer erhöhten psychischen Instabilität wie Angststörungen oder depressiven Symptomen vor dem Drogenkonsum in Zusammenhang gebracht. In den „aktuellen S3-Leitlinien, Medikamentenbezogene Störungen, Version 1.1“ fand sich in der Studie von Martens et al. bei ca. 20 bis 25 % in einem Patientenkollektiv, die entweder opioidhaltige Medikamente erhielten oder in einer Substitutionsbehandlung waren, eine zeitgleiche Benzodiazepineinnahme statt. Ebenso wies die narrative Übersichtsarbeit von Jones et al. auf den gleichzeitigen Missbrauch bzw. Abhängigkeit von Opioiden und Benzodiazepinen hin.

#### **1.1.5. Benzodiazepine zur Entgiftungsbehandlung**

Bei chronischer Benzodiazepin-Einnahme ist ein abruptes Absetzen kontraindiziert aufgrund der Risiken wie Entzugskrampfanfälle oder des lebensbedrohlichen Entzugsdelirs (Benkert O, Hippus H. Kompendium der Psychiatrischen Pharmakotherapie. 9. Aufl.). Dieses Phänomen gründet auf der sogenannten „Down-Regulation“ der Rezeptoren, d.h. es stehen weniger Rezeptoren zur Verfügung, mit konsekutiver Wirkabschwächung, die immer höhere Dosen erfordern, um die gleiche Wirkung zu erzielen. In der Analyse von Lader

et al. zeigten sich keine schweren Entzugssyndrome bei kurzwirksamen Benzodiazepinen im Vergleich zu langwirksamen Benzodiazepinen. Daher wird eher im ambulanten Rahmen der Einsatz langwirksamer Benzodiazepine empfohlen. In der stationären Entgiftungsbehandlung des Klinikums Stuttgart ist eine Benzodiazepin-Freiheit bei Entlassung dringend notwendig aufgrund von nachfolgenden Therapien wie etwa einer nahtlosen Anbindung an eine suchtspezifische Rehabilitationsbehandlung sowie die Weiterführung einer ambulanten Substitutionsbehandlung. Daher wird das kurzwirksame Benzodiazepin Oxazepam verwendet aufgrund der kürzeren Halbwertszeit.

## **1.2. Benzodiazepine**

### **1.2.1. Substanzen**

Benzodiazepine sind sich in der chemischen Struktur ähnlich und umfassen eine Vielzahl von Medikamenten. Benzodiazepine werden überwiegend oral aufgenommen, in unterschiedlicher Geschwindigkeit resorbiert, in der Leber teilweise zu aktiven Metaboliten umgewandelt und über die Niere als Glukuronide ausgeschieden (Benkert O., Hippus H. Kompendium der Psychiatrischen Pharmakotherapie. 9. Aufl.).

Benzodiazepine sind polycyclische organische Verbindungen, die aus einem Benzol- und einem Diazepinring bestehen. Sie zählen zu den psychotropen Substanzen. Alle Benzodiazepine binden an die GABA-Rezeptoren, die zu den wichtigsten inhibitorischen Rezeptoren im Zentralnervensystem gehören und unter anderem für die sedierenden und angstlösenden Effekte verantwortlich sind (Benkert O., Hippus H. Kompendium der Psychiatrischen Pharmakotherapie. 9. Aufl.).

Die erste Verbindung aus dieser Gruppe, die zum Einsatz kam, war Chlordiazepoxid. Es wurde 1957 entwickelt und 1960 unter dem Handelsnamen Librium auf den Markt gebracht, wie unter [www.drug.com](http://www.drug.com) aufgeführt. Diazepam

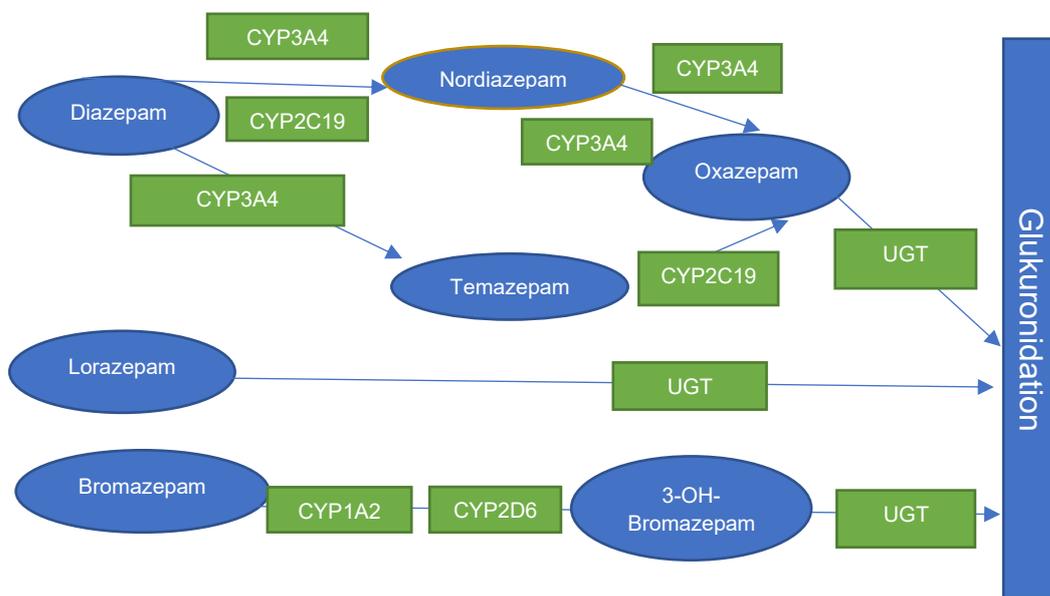
war als zweites Benzodiazepin ab 1963 unter dem Handelsnamen Valium durch Hoffmann-La Roche erhältlich. In dem Artikel „Geburtstag eines Klassikers, 55 Jahre Valium“ der Autorin Weber-Fina unter „DAZ-online“ wurde Valium damals als das Medikament zur Entspannung, zur Angstlösung und als Einschlafhilfe angepriesen, insbesondere ohne die gravierenden Nebenwirkungen wie unter den Barbituraten bekannt. 1977 wurde Diazepam in die Liste der unentbehrlichen Arzneimittel der Weltgesundheitsorganisation aufgenommen. In Deutschland war Diazepam noch 2005 das am häufigsten verordnete Benzodiazepin wie im Artikel „Vom Wundermittel zur Risikomedikation“ in der Pharmazeutische Zeitung angegeben.

Es gibt mehrere Untergruppen von GABA-Rezeptoren. Vor allem die GABA<sub>A</sub>-Rezeptoren spielen eine wichtige Rolle im Gehirn und Rückenmark. Dem GABA<sub>A</sub>-Rezeptor kommt in den Basalganglien, die auch für die Bewegungsabläufe verantwortlich sind, im Kleinhirn, welches unter anderem zuständig ist für Gleichgewicht und Motorik sowie im Thalamus, welcher an der Schlafarchitektur beteiligt ist eine kontrollierende Funktion zu. Auch im Rückenmark befinden sich GABA-Rezeptoren auf Motoneuronen, die an der Reflex-Verschaltung ebenso wie an der Koordination von Bewegungsabläufen beteiligt sind. Diese Hirnregionen/Hirnzentren sind ihrerseits untereinander eng vernetzt und beeinflussen sich gegenseitig. Bei einer vermehrten inhibitorischen-GABA-Rezeptor-Bindung kommt es allgemein zu einer motorischen Verlangsamung mit verminderter Reaktion, Koordinationsstörungen sowie Somnolenz ([www.wikipedia.org/wiki/GABA-Rezeptor](http://www.wikipedia.org/wiki/GABA-Rezeptor))

Eine beträchtliche Anzahl von Substanzen, die stimulierend auf den GABA<sub>A</sub>-Rezeptor wirken, sind suchtauslösend. Dies gilt vor allem für die großen Substanzklassen der Benzodiazepine, der Barbiturate sowie auch für Alkohol. Als ein wichtiger Teil des Gehirns spielt das ventrale Tegmentum als Teil des limbischen Systems mit dem Neurotransmitter Dopamin eine wichtige Rolle bei der Entstehung und Aufrechterhaltung einer Suchterkrankung ([www.wikipedia.org/wiki/GABA-Rezeptor](http://www.wikipedia.org/wiki/GABA-Rezeptor)).

Zudem unterliegen GABA-Rezeptoren einer pharmakologischen Toleranz. Das bedeutet, dass bei Gabe von Medikamenten, die den Rezeptor beeinflussen, mit der Zeit eine immer größere Dosis benötigt wird, um den gleichen Effekt zu erzielen. Dies ist auf die sogenannte „Down-Regulation“ der GABA-Rezeptoren zurückzuführen mit dem konsekutiven relativen Überwiegen von exzitatorischen Rezeptoren.

### 1.2.2. Metabolismus der gängigsten Benzodiazepine



**Abbildung 1:** Metabolismus der wichtigsten Benzodiazepine

(Benkert O., Hippus H. Kompendium der Psychiatrischen Pharmakotherapie. 9. Aufl.)

- Diazepam (Handelsname Valium<sup>®</sup>) wird hauptsächlich über CYP2C19 und über CYP3A4 in die beiden aktiven Metaboliten Nordiazepam und Temazepam metabolisiert.
- Temazepam (Handelsname Planum<sup>®</sup>) wird über CYP2C19 und über CYP3A4 zum Oxazepam metabolisiert.
- Nordiazepam (nicht mehr in Deutschland im Handel erhältlich) wird über CYP3A4 zu Oxazepam abgebaut.

- Oxazepam (Handelsname Adumbran<sup>®</sup>) erfolgt der Metabolismus über UGT durch direkte Glukuronidierung und wird anschließend als wasserlösliches Glukuronid mit dem Harn ausgeschieden.
- Bromazepam (Handelsname Lexotanil<sup>®</sup>) wird über CYP2D6 und CYP1A2 hydroxyliert und anschließend über verschiedene UGT's mit dem Harn ausgeschieden zu werden.
- Lorazepam (Handelsname Tavor<sup>®</sup>) wird direkt über UGT zum wasserlöslichen Glukuronid metabolisiert, welches mit dem Harn ausgeschieden wird.
- Alprazolam (Handelsname Xanax<sup>®</sup>) wird über CYP3A5 und CYP3A6 zum Glukuronid metabolisiert und mit dem Harn ausgeschieden.
- Flunitrazepam (Handelsname Rohypnol<sup>®</sup>, seit dem 01.11.2011 Btm-pflichtig): wird über CYP3A4 und CYP2C19 in die Metaboliten Desmethylflunitrazepam und 3-Hydroxyflunitrazepam umgewandelt und über verschiedene UGT's ausgeschieden.

### 1.2.3. Pharmakodynamik

**Die pharmakodynamischen Wirkungen** (Kompendium der Psychiatrischen Pharmakotherapie, 9. Auflage, Seite 380):

- anxiolytisch
- hypnotisch (Unterdrückung von Tiefschlafanteilen und von REM-Schlaf)
- muskelrelaxierend
- antikonvulsiv (hohe Dosen notwendig)
- amnestisch

### 1.2.4. Pharmakokinetik

Gemäß Benkert/Hippius werden alle Benzodiazepine durch die lipophile Struktur nach oraler Aufnahme relativ rasch resorbiert.

#### **1.2.4.1. Einteilung der Benzodiazepine nach Resorptionsgeschwindigkeit gemäß Benkert/Hippius:**

##### **Schnelle Resorption:**

- Diazepam hat bei oraler Gabe einen Wirkungseintritt von 30 - 90 min. HWZ 24 – 48 h.
- Flunitrazepam hat bei oraler Gabe den schnellsten Wirkeintritt aller Benzodiazepine mit einer oralen Verfügbarkeit von 75 - 80%. Der maximale Wirkungseintritt erfolgt nach 30-90 Minuten. Die HWZ beträgt 10 - 30 h.
- Temazepam hat eine orale Bioverfügbarkeit von 90-100% und einem maximalen Wirkungseintritt von ca. 1 h. Die Halbwertszeit liegt bei 5 - 13 h.

##### **Relativ schnelle Resorption:**

- Lorazepam wird sehr rasch und fast vollständig resorbiert mit einem maximalen Plasmaspiegel von 1 - 2 h und einer HWZ von 12 - 16 h.
- Bromazepam wird relativ schnell resorbiert mit einer oralen Bioverfügbarkeit von 60 % und einem maximalen Plasmaspiegel von ca. 2 h. Die Halbwertszeit liegt bei 15 - 28 h.

##### **Relativ langsame Resorption:**

- Oxazepam wird relativ langsam resorbiert mit einer oralen Bioverfügbarkeit von 80 - 90% und einem maximalen Wirkungseintritt von 1 - 3 h. Die Halbwertszeit liegt bei 4 - 15 h.

#### **1.2.4.2. Einteilung der Benzodiazepine nach Eliminationshalbwertszeiten gemäß Benkert/Hippius:**

Langwirksame Benzodiazepine mit seinen langwirksamen Metaboliten dadurch bedingt Kumulationsgefahr in der Leber sind beispielsweise:

- Diazepam mit einer HWZ von 24 - 48 h mit seinem beiden aktiven Metaboliten
- Nordiazepam mit einer HWZ von 36 - 200 h sowie
- Temazepam mit einer HWZ von 5 - 13 h als mittellangwirksamer Metabolit

Mittellangwirksame Benzodiazepine sind beispielsweise

- Bromazepam mit einer HWZ von 15 - 28 h sowie
- Oxazepam mit einer HWZ von 4 - 15 h

Kurzwirksame Benzodiazepine (kein aktiver Metabolit oder langsame Wirkungsabschwächung wie

- Midazolam mit einer HWZ von 1 - 5 h

### **1.2.5. Abhängigkeit und Entzug**

Gemäß dem „Leitfaden für die ärztliche Praxis, Medikamente – schädlicher Gebrauch und Abhängigkeit“, herausgegeben von der Bundesärztekammer und in der Zusammenarbeit mit der Arzneimittelkommission der deutschen Ärzteschaft von 2007 sind wie in Kapitel 2 beschrieben

#### **Zeichen der Abhängigkeit:**

- Konzentrations- Auffassungs- und Merkfähigkeitsstörungen
- Eingeschränkte emotionale Resonanz
- Schnelle Erschöpfbarkeit mit vermindertem Antrieb und Leistungsfähigkeit
- Vernachlässigung von Interessen mit intensiver gedanklicher Beschäftigung zur Beschaffung des Medikamentes
- Gestörter Tag-Nachtrhythmus
- Craving“, Verlangen des Suchtmittels mit stetiger Dosissteigerung
- Beschaffung über „Ärztelisting“ oder über den Schwarzmarkt

#### **Typische Entzugssymptome:**

- Schlafstörungen
- Angst
- Innere Unruhe/Nervosität
- Deutliche Stimmungsschwankungen mit vornehmlich depressiv-gereizten Affekt
- Muskelziehen und Muskelschmerzen
- Tremor
- Kopfschmerzen

- Übelkeit/Appetitverlust
- Überempfindlichkeit gegen alle Wahrnehmungsarten wie Berührung, Geruch, Sehen/Licht, Hören, Schmecken
- Unterempfindlichkeit gegen Wahrnehmungen, die jedoch seltener auftreten
- Schwitzen
- Verschwommenes Sehen
- Psychosen (selten < 10%)
- Epileptische Anfälle (< 5%)

Um Entzugssymptome zu vermeiden, dürfen Benzodiazepine nie schlagartig abgesetzt werden wegen der Gefahr von Entzugskrampfanfällen sowie dem seltenen jedoch lebensbedrohlichen Entzugsdelir!

Bei längerdauerndem Benzodiazepinkonsum und bei polytoxikomen Patienten wird ein stationärer Entzug über mindestens vier Wochen empfohlen (S3 Leitlinien Medikamentenbezogene Störungen Kap. 3.2.5.2). Aufgrund der postulierten vollständigen Benzodiazepinfreiheit bei Entlassung wurde Oxazepam mit seiner mittleren HWZ in der Suchtklinik des ZSG Stuttgart eingesetzt. Dies verhindert zum einen kumulativen Effekt und zum anderen kann eine gezieltere Steuerbarkeit während des Entzuges erzielt werden. Im Gegensatz dazu werden im ambulanten Rahmen bei einem ausreichend complianten Patientenkontinuum eher langwirksame Benzodiazepine wie beispielsweise Diazepam eingesetzt (S3 Leitlinien Medikamentenbezogene Störungen Kap. 3.2.5.2).

### **1.3. Entgiftungstherapie mit einer kontrollierten Oxazepamgabe**

Nach Abgabe der Eingangsurine unter Sicht wird die oxazepamgestützte Entgiftung in der Suchtklinik des ZSG Stuttgart eingeleitet. Diese erfolgt initial durch eine engmaschige Überwachung der benzodiazepinassoziierten Entzugssymptome mit maximal zwei- bis vierstündigen Oxazepamgaben von 15-30 mg. Nach einigen Tagen wird die Gesamtmenge von Oxazepam ermittelt

und den Patienten in vier Einzeldosierungen pro Tag ärztlich verordnet. Gemäß eines definierten Oxazepamreduktionsschemas wird sukzessive Oxazepam langsam ausgeschlichen.

#### **1.4. Urinkontrollen**

##### **Urin:**

Die Vorteile von Urin sind eine schnelle, nicht invasive Gewinnung sowie eine längere Nachweisbarkeit von Substanzen und deren Metabolite als beispielsweise bei Blutproben. Zudem haben auf den Urin Alter, Geschlecht, Körpergewicht, Körpergröße sowie die Nahrung relativ wenig Einfluss. Einen gewissen Nachteil in der Urindiagnostik bieten tageszeitliche Konzentrationsschwankungen, die mit dem zusätzlich bestimmten Urinkreatininwert partiell ausgleichen werden können.

Kreatinin ist eine harnpflichtige Substanz, die relativ konstant mit einer Rate von 1-1,5 g pro 24 Stunden ausgeschieden wird. Kreatininwerte unter 30 mg/dl weisen auf einen stark verdünnten Urin hin und die Urinproben werden von der Diagnostik ausgeschlossen ([www. psychiatrietogo.de/2017/06/06/drogen-screening-und-kreatinin](http://www.psychiatrietogo.de/2017/06/06/drogen-screening-und-kreatinin))

##### **1.4.1. Immunoassays**

Als Drogen- oder Medikamenten-Screeningverfahren basieren Immunoassays auf einer Reaktion mit der zu nachweisenden Substanz bzw. Substanzgruppe als sogenanntes Antigen mit einem im Test vorhandenen Antikörper. Um diese Reaktion sichtbar zu machen, können verschiedene Verfahren zum Einsatz kommen wie der Radioimmunoassay mit einem radioaktiven Marker, mit einer fluoreszierenden Substanz als Marker oder mit Teststreifen auf immunchemischer Basis oder, wie in der vorliegenden Arbeit, mit einem Enzym-Immunoassay, bei dem eine enzymatische Reaktion als Marker dient. Bei allen Immunoassays kommt es aufgrund der limitierenden Menge des Antikörpers, der

mit den Benzodiazepin-Antigenen reagiert, zu einer Sättigungskurve trotz eventuell höherer Benzodiazepin-Konzentrationen in der Probe (Dimension Vista System).

#### **1.4.1.1. Gruppentest**

Der immunologische Suchtest für Benzodiazepine ist ein Gruppentest, bei dem sich die Antikörper gegen die Grundstruktur der Benzodiazepine richtet. Er weist daher größere Gruppen von Substanzen nach mit ähnlicher Grundstruktur und ist daher nicht spezifisch. Er deckt somit ein breiteres Spektrum von möglichen Substanzen ab. Gleichzeitig wird mit dem sogenannten Cut-off-Wert ein festgesetzter Konzentrationswert definiert, der vom Hersteller abhängig ist, ab welcher Konzentration ein positives Ergebnis angezeigt wird. In der vorliegenden Arbeit wurde versucht über zeitlichen Verlaufsmessungen eine semiquantitative Benzodiazepin-Bestimmung (Trendbeurteilung) abzuleiten. Dies ist bedingt möglich, in dem ein Quotient zwischen dem Signal des Immunoassays und dem Urinkreatinin berechnet wird verbunden mit Messungen über Kalibratoren, die eine genau definierte Benzodiazepin-Konzentrationen in aufsteigenden Konzentrationen aufweisen, welche das Labor bestimmt. Es werden so durch die Kalibratoren-Konzentrationen Standardkurven erstellt. Dadurch kann man bedingt Rückschlüsse auf die vorhandenen Konzentrationen der anderen Benzodiazepine ziehen innerhalb der zu bestimmenden unteren sowie oberen Bestimmungsgrenze. Aufgrund der relativ größeren Gruppensubstanzerfassung ist der Immunoassay anfällig hinsichtlich falsch positiver als auch falsch negativer Ergebnissen wie auch in der Studie der Autoren Moeller et al. „Clinical Interpretation of Urine Drug Tests: What Clinicians Need to Know About Urine Drug Screens“ dargelegt werden konnte. Falsch positive Werte können entstehen, wenn eine andere Substanz mit dem Antikörper reagiert, der nicht in die Gruppe der Benzodiazepine gehört. Für jeden Test existieren Herstellerhinweise für genau definierte Substanzen mit deren Konzentrationsangaben, die fälschlicherweise zu einem positiven Ergebnis auf Ben-

zodiazepine führen können. Dies wird auch als sogenannte Kreuzreaktion bezeichnet. Zu falsch positiven Ergebnissen können auch unspezifische Bindungen und Matrixeffekte führen. Eine ausführliche Darstellung findet sich „Assay-optimierung: Störeffekte bei Immunoassays erkennen und vermeiden“, Laborwelt, 2005 – Vol. 6 der Autoren Rauch et al.. Falsch negative Ergebnisse erhält man auch, wenn die Konzentration der zu nachweisenden Substanz unterhalb des herstellerdefinierten Cut-off-Wertes liegt. Zudem weisen Immunoassays in der Regel die freien/nicht-konjugierten Formen der Benzodiazepine nach. Benzodiazepine, die unmittelbar als Glukuronid-Konjugaten ausgeschieden werden, wie zum Beispiel Alprazolam und Lorazepam werden daher oft nicht erfasst, was ebenfalls zu falsch negativen Ergebnissen führen kann.

#### **1.4.1.2. Einzelsubstanzen**

Unter Kreuzreaktivität versteht man die Bindung eines Antikörpers an zwei unterschiedliche Antigene, die eine identische oder sehr ähnliche Bindungsstelle aufweisen, an die der Antikörper binden kann wie unter <https://de.wikipedia.org/wiki/Kreuzreaktivit> beschrieben. Unter den verschiedenen Benzodiazepinen hat Diazepam mit 70 ng/ml eine der höchsten Affinität sich an den Antikörper zu binden. Das heißt eine Konzentration von mindestens 70 ng/ml zeigt ein positives Ergebnis an. Lorazepam hat eine viel geringere Affinität und zeigt erst bei mindestens 700 ng/ml ein positives Ergebnis an, da Lorazepam ohne Abbauprodukte direkt zu einem Glukuronid-Konjugat metabolisiert wird und im Harn ausgeschieden wird. In der Vergleichsstudie von Peske et al. „An Evaluation of the Diagnostic Accuracy of Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Versus Immunoassay Drug Testing in Pain Patients“, zeigten sich bei 28% negativen Ergebnissen auf Benzodiazepine im Immunoassay positive Ergebnisse in der LC-MS/MS. Es wurde in dieser Studie nicht untersucht, um welche Benzodiazepine es sich dabei handelte.

### **1.4.1.3. Flüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie (LC-MS)**

#### **1.4.1.3.1. Ionenfalle (Toxytyper)**

Dieses Verfahren beinhaltet die Flüssigchromatografie (LC) zur Auftrennung der einzelnen Substanzen mit anschließender massenspektrometrischer Detektion mittels Ionenfalle (ITMS). Das Screening auf Drogen mit diesem System basiert auf der LC-MS n-Ionenfallentechnologie und der MS n-Bibliothekensuche. Es besteht aus einem Dionex TM Ultimate 3000 UHPLC (ThermoFisher Scientific, TF, Dreieich, Deutschland) gekoppelt an eine Ionenfalle (Bruker, Bremen, Deutschland). Die Auswertung der MS-Spektren beruht auf dem Abgleich mit Referenzspektren, die in Bibliotheken vorliegen, die entweder vom Hersteller mitgeliefert werden, zum Beispiel „DOAL“ = **D**rugs **o**f **A**buse **L**ibrary oder im Handel erhältlich sind, wie beispielsweise MWW-Methode = **M**aurer/**W**issenbach/**W**eber. Dieses Verfahren liefert qualitative Substanz-Nachweise, die zunächst unter der Verwendung der „MWW-Methode“ aufgrund der umfassenderen Bibliothek durchgeführt werden. Die „DOAL-Methode“ ist für ein gezieltes Screening der „MWW-Methode“ überlegen. Zudem ist das Drogenscreening mit dem Toxytyper einfacher in der Durchführung, kostengünstiger und zeitersparend im Gegensatz mit der Quadrupol-LC-MS-Methode, die jedoch semiquantitative Ergebnisse liefert. Eine ausführliche Darstellung finden sich in der Studie „Detection of drugs of abuse in urine using the Bruker Toxytyper TM: Experiences in a routine clinical laboratory setting“ der Autoren Ott et al..

#### **1.4.1.3.2. Triple-Quadrupol**

Dies ist ein analytisches Verfahren, welches ebenfalls aus zwei nacheinander geschalteten Verfahren besteht. Zunächst werden in der Hochdruck-Flüssigkeitschromatografie verschiedenen Substanzen getrennt. Danach erfolgt eine Messung mit einem Quadrupol-Massenspektrometer, auch Tandem-Massenspektrometer genannt. Das Gerät besteht aus drei Quadrupolen. Der erste und

dritte Quadrupol sind Analysatoren, der zweite Quadrupol ist eine Stosszelle, in der eine Fragmentierung der Moleküle stattfindet. Zunächst werden die Moleküle ionisiert und im ersten Quadrupol entsprechend ihres Masse-zu-Ladung-Verhältnisses ( $m/z$ ) getrennt. Anschließend werden diese Ionen in der Stoßkammer fragmentiert. Die fragmentierten Ionen werden im dritten Quadrupol detektiert. Die Auswertung erfolgt hierbei über die Fläche des Massensignals der Einzelsubstanzen durch eine spezielle Software und stellt somit ein semiquantitatives Verfahren dar, da das Messsignal nicht auf einen Kalibrator bezogen wird.

## **2. Fragestellung**

Die parallele Untersuchung von Urinen mittels Immunoassay und LC-MS sollte dazu dienen, um zu klären, ob sich die Compliance der Patienten bei einer oxazepamgestützten Entgiftungstherapie in Urinproben mit einem immunchemischen Benzodiazepingruppentest wegen der zu erwartenden Kreuzreaktivitäten verfolgen lässt. Darüber hinaus sollte mit einem LC-MS-Screening-Verfahren der Beikonsum anderer Benzodiazepine und Substanzen vor der Therapie geprüft werden.

## **3. Patienten und Methoden**

### **1.2 Patientenkollektiv**

Untersucht wurde ein Kollektiv von insgesamt 33 Patienten im Alter zwischen 22 und 51 Jahren, die im Klinikum Stuttgart im Jahr 2015 über einen Zeitraum von anderthalb Jahren stationär zur Entgiftung behandelt wurden. Davon waren 27 männlich, entspricht 82%, und sechs weiblich, entspricht 18%. Alle hatten die Diagnose einer Polytoxikomanie.

### **1.3 Therapieregime**

Es erfolgte nach Erhalt der Eingangsurine die oxazepamgestützte Benzodiazepinintoxikation gemäß des standardisierten Alkoholentzugssymptombogens (AESB), Alkoholentzugsskala gemäß CIWA-Ar (Clinical Institute Withdrawal Assessment for Alcohol), Stuppaek et al., welcher die folgenden Symptome mit ihrer Schwere in einem Punktesystem berücksichtigt:

- Blutdruck
- Ruhepuls
- Tremor
- Schwitzen
- Übelkeit/Erbrechen/Durchfall
- Ängstlichkeit/Nervosität
- Psychomotorische Unruhe
- Orientierung
- Trugwahrnehmungen/Halluzinationen
- Krampfanfälle

Die Symptomatik wurde alle zwei bis vier Stunden über maximal drei Tage abgefragt, dokumentiert und je nach Punktzahl der Symptomatik wurden 15 – 30 mg Oxazepam verordnet. Nach diesem Zeitraum konnte die Summe der notwendigen Oxazepamdosis als Festmedikation ermittelt werden. Die maximal verordnete Tagesdosis bestand aus 4 x 30 mg täglich. Anschließend wurde Oxazepam langsam in Schritten von 15 mg pro Tag ausgeschlichen.

### **3.3. Probensammlung**

Urinproben wurden für die Routineüberwachung der oxazepamgestützten Entgiftung im Zentrallabor der Klinikums Stuttgart taggleich untersucht. Die Proben wurden für 14 Tage bei 4°C archiviert für eventuelle Kontroll- und Nach-

untersuchungen. Die Urinkontrollen wurden jeweils vor Einleitung der medikamentösen Therapie morgens von den Patienten unter Sichtkontrolle abgegeben. Insgesamt wurden von den 33 Patienten 143 Urinproben untersucht. Die Proben wurden nicht für wissenschaftliche Fragestellungen gesammelt, sondern ausschließlich zur Therapiekontrolle. Die Patienten waren alle über die Urinkontrollen informiert und haben diesen im Behandlungsvertrag zugestimmt.

Die Ethikkommission der Universität Tübingen hat der Untersuchung mit dem Zeichen **536/2017BO2** zugestimmt.

### **3.4. Messmethoden**

#### **3.4.1. Immunchemischer Gruppentest**

Die immunchemischen Untersuchungen wurden mit dem Dimension Vista System von Siemens (Eschborn, Deutschland) und einem Syva Emit (Enzyme multiple immunoassay technique)-Test durchgeführt.

Dieser immunologische Test ist für die in vitro qualitative und semiquantitative Benzodiazepinbestimmung geeignet. Er bietet lediglich ein vorläufiges Ergebnis und sollte vor allem bei positivem Ergebnis durch alternative Verfahren wie Gas-/Flüssigkeitschromatografie Massenspektrometrie bestätigt werden. Bei den Urinproben wurde eine enzymatische Hydrolyse mittels Beta-Glukuronidase vor der Reaktion mit dem Antikörper durchgeführt, um die Empfindlichkeit der Methode zu steigern.

Der verwendete Syva Emit II Plus Benzodiazepine Assay ist ein homogenes Enzym-Immunoassay-Verfahren, der zur Analyse spezifischer Verbindungen im menschlichen Urin verwendet wird. Dieser Assay basiert auf der Konkurrenz zwischen der Substanz in der Urinprobe und der mit dem Enzym Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (G-6-P-DH) markierten Substanz um die Anti-

körper-Bindungsstelle. Die Enzymaktivität nimmt bei der Bindung an den Antikörper ab, so dass die Substanz-Konzentration in der Urinprobe anhand der Enzymaktivität gemessen werden kann. Das aktive Enzym (G-6-P-DH) wandelt das Coenzym Nicotin-Adenin-Dinukleotid (NAD) in NADH um, was zu einer Absorptionsänderung führt, welche spektrometrisch gemessen wird. Das Enzym G-6-P-DH in der Probe interagiert nicht, da das Coenzym NAD nur mit dem im Assay verwendeten Enzym des Milchsäure-Bakteriums, *Leuconostoc mesenteroides*, reagiert.

Testdurchführung:

Urinprobe: 4 µl

Reagenz 1 (AK, NAD<sup>+</sup> und Glukose-6-Phosphat): 98 µl

Reagenz 2 (Glukose-6-Dehydrognease-Konjugat): 42 µl

Temperatur: 37 °C

Reaktionszeit: 5,3 min

Wellenlänge: 340 und 600 nm

Kalibrierung: Der Test ist auf Lormetazepam kalibriert und ergibt ein semi-quantitatives Messergebnis für alle anderen Benzodiazepine, die kreuzreagieren. Es werden folgende Konzentrationen verwendet.

- 0 ng/ml Lormetazepam
- 100 ng/ml Lormetazepam
- 200 ng/ml Lormetazepam als **Cut-off-Wert**
- 300 ng/ml Lormetazepam
- 1000 ng/ml Lormetazepam

Ergebnisse:

Ein positives oder negatives Ergebnis für Benzodiazepine wird in Verhältnis gesetzt zum Cut-off-Wert (hier 200 ng/ml). Ein positives Ergebnis wird so interpretiert, dass es wahrscheinlich Benzodiazepine enthält. Ein negatives Ergebnis weist daraufhin, dass in der Probe entweder keine Benzodiazepine enthalten sind, Benzodiazepine nicht mit dem Antikörper reagieren oder die Konzentrationen der Benzodiazepine unter dem Cut-off-Wert liegen.

Analytische Spezifität:

Verschiedene Benzodiazepin-Verbindungen und deren Metabolite wurden in dem Test auf Kreuzreaktivität getestet. Die nachstehend aufgelisteten Konzentrationen sind die niedrigsten Konzentrationen, die positive Ergebnisse erzielen:

- Diazepam 70 ng/ml
- Oxazepam 250 ng/ml
- Temazepam 140 ng/ml
- Nordiazepam 110 ng/ml
- Lorazepam 600 ng/ml
- Bromazepam 630 ng/ml
- Alprazolam 65 ng/ml
- Flunitrazepam 140 ng/ml
- Clonazepam 380 ng/ml

### **3.4.2. Qualitative Analyse von Medikamenten und Drogen im Urin mittels Flüssigchromatographie und massenspektrometrischer Detektion mit einer Toxyper Ionenfalle**

Testprinzip: Nach erfolgter Vorbereitung der Proben mittels einer Acetonitril-Präzipitation werden die Analyten flüssigchromatografisch aufgetrennt und mittels Ionenfallen-Massenspektrometrie detektiert. Die Identifikation findet durch Vergleich mit den Referenzspektren in elektronischen Bibliotheken statt. Bei den Urinproben wurde eine enzymatische Hydrolyse mittels Beta-Glucuronidase vor der Extraktion durchgeführt, um die Empfindlichkeit der Methode zu steigern.

Interpretation: Ein positives Ergebnis entspricht die Nachweisbarkeit des jeweiligen Analyten in der Probe ohne spezifische Cut-offs. Es ist zu berücksichtigen, dass es sich bei der Methode um eine Screening-Methode handelt, die

als solche einen Kompromiss zwischen Nachweisempfindlichkeit einerseits und der Erfassung möglichst vieler Arznei- und Suchtstoffe sowie deren Metabolite (hier zusätzliche Substanzen in den Eingangsurinen) anderseits darstellt.

Messsystem: ITMS: amaZon speed Toxyper

LC: Dionex Ultimate 3000 UHPLC

Messbereich: 70-800 m/z

### **Reagenzien:**

- Mobile Phase A (2 L): 252,2 mg Ammoniumformiat + 1978 ml Wasser + 2 ml konzentrierte Ameisensäure + 20 ml Acetonitril
- Mobile Phase B (2,5 L): 27,5 ml Acetonitril + 25 ml Ammoniumformiatlösung + 2,5ml konzentrierte Ameisensäure
- 0,1 mol/L Phosphatpuffer pH5
- Beta-Glukuronidase Arbeitslösung
- Interner Standard (IS, 100 ng/ml Diazepam-D5)
- Blank Probe (99%A/ 1%B): 49,5 mL Mobile Phase A + 0,5 mL Phase B
- Toxyper QC-Probe
- Stocklösung 1 (Benzoyllecgonin, Methadon und Sufentanil, Amphetamin, Acetylcodein, Nordiazepam und Diazepam)
- Stocklösung 2: (Pregabalin, 1mg/mL)

### **Kalibration:**

- Pregabalin: Kalibrator 1 (0,5 mg/L) und Kalibrator 2 (10 mg/L)
- Interne Qualitätskontrolle

Positiv-Kontrollen, täglich: Tabelle 1: Endkonzentrationen der Positivkontrollen

Analyt	Konzentration [ $\mu\text{g/l}$ ]
Amphetamin	250,00
Benzoylecgonin	50,00
Acetylcodein	40,00
Methadon	6,25
Sufentanil	20,00
Nordiazepam	200,00
Diazepam	100,00
Pregabalin	1500

Für den Nachweis von Cannabis im Urin wurde Liquichek<sup>TM</sup> Urine Toxicology Control, Level C3, (Hersteller BioRad) als positiv Kontrolle benutzt.

Negativkontrolle: Täglich (Negativurin selbst „hergestellt“)

#### Analytik:

Patientenurine und Kontrollen unterliegen vor der Extraktion einem Hydrolyseschritt. Dieser erfolgte durch Zugabe von jeweils 100  $\mu\text{l}$  Patientenurin, Kontrollen sowie Pregabalin-Kalibratoren mit 10  $\mu\text{l}$  einer Beta-Glukuronidase-Lösung. Danach erfolgt die Urin Extraktion mit jeweils 100  $\mu\text{l}$  der hydrolysierten Probe sowie 100  $\mu\text{l}$  der Kontrollen mit jeweils 125  $\mu\text{l}$  der Internen Standard-Lösung mit anschließender Zentrifugation. 200  $\mu\text{l}$  der Überstände der Gemische wurden mit 800  $\mu\text{l}$  der Mobilen Phase A in HPLC-Vials ohne Inlay gegeben und nach ausreichender Mischung zur Injektion verwendet.

#### LC-ITMS:

Mobile Phase: Mobile Phase A und B

Flow: 0,5 mL/min

Injektionsvolumen: 25  $\mu\text{l}$

Massenbereich: 70 – 800 m/z

Die Analyten wurden flüssigchromatografisch aufgetrennt und mittels Ionenfallen-Massenspektrometrie (Auto MSn (MS2 bzw. MS3) detektiert.

Die Interpretation der aufgezeichneten Massenspektren basiert auf dem Grad der Übereinstimmungen mit den entsprechenden Referenzspektren, die in der jeweiligen Bibliothek hinterlegt sind. Die erste Auswertung der Massenspektren erfolgte über die Referenzspektren- Bibliothek von „MWW“, **M**aurer/**W**isenbach/**W**eber, welche im Handel erhältlich ist. Bei Unstimmigkeiten zwischen dem Ergebnis des immunchemischen Screenings und der Auswertung mit der MWW-Bibliothek erfolgt eine zweite Auswertung mit der „DOA-Bibliothek“, **D**rugs **O**f **A**buse (**L**ibrary), welche vom Hersteller bezogen wird. Die Nachweisgrenzen wurden im Labor ermittelt und sind in Tabelle 2 dargestellt:

Tabelle 2: Nachweisgrenzen

Analyt:	MWW [ $\mu\text{g/L}$ ]	DOA [ $\mu\text{g/L}$ ]
Pregabalin	500	200
Amphetamin	200	50
Benzoyllecain	5	5
Acetylcodein	10	5
Buprenorphin	100	5
Methadon	5	5
Sufentanil	5	5
Nordiazepam	50	5
THC-COOH		10

### 3.4.3. Semiquantitative Analyse von Benzodiazepinen im Urin mittels Triple-Quadrupol-Massenspektrometrie

Messsystem: Waters H-Class UPLC/Micromass TQD oder XEVO TQD

Testprinzip: Nach erfolgter Vorbereitung der Proben mittels Acetonitril-Präzipitation der Proteine und Zentrifugation werden die Analyten im wässrigen

Überstand chromatografisch aufgetrennt und nach Messung ihrer Massenübergangssignale über die Signalfäche quantifiziert. Es kommen vier deutere interne Standards zum Einsatz. Folgende Massenübergänge wurden benutzt (Übergang Nr. 1 ist der Quantifier, Nr. 2 ist der Qualifier):

Tabelle 3: Messung der Analyten gemäß ihrer Massenübergangssignale:

Midazolam 1	326,10 → 291,05 m/z
Midazolam 2	326,10 → 249,06 m/z
1-OH-Midazolam 1	342,17 → 203,05 m/z
1-OH-Midazolam 2	342,17 → 168,02 m/z
Diazepam 1	285,07 → 193,07 m/z
Diazepam 2	285,07 → 154,07 m/z
Nordiazepam 1	271,09 → 140,03 m/z
Nordiazepam 2	271,09 → 165,06 m/z
Oxazepam 1	287,09 → 241,05 m/z
Oxazepam 2	287,09 → 104,09 m/z
Temazepam 1	301,07 → 255,09 m/z
Temazepam 2	301,07 → 177,08 m/z
Clobazam 1	301,07 → 259,06 m/z
Clobazam 2	301,07 → 224,02 m/z
Norclobazam 1	287,04 → 209,99 m/z
Norclobazam 2	287,04 → 245,03 m/z
Bromazepam 1	316,10 → 182,06 m/z
Bromazepam 2	316,10 → 209,04 m/z
Flurazepam 1	388,16 → 315,07 m/z
Flurazepam 2	388,16 → 100,12 m/z
Nitrazepam 1	282,14 → 236,10 m/z
Nitrazepam 2	282,14 → 180,07 m/z
Flunitrazepam 1	314,14 → 268,11 m/z
Flunitrazepam 2	314,14 → 239,12 m/z
7-Amino-Flunitrazepam 1	284,14 → 226,33 m/z
7-Amino-Flunitrazepam 2	284,14 → 135,08 m/z
Clonazepam 1	315,98 → 270,13 m/z
Clonazepam 2	315,98 → 214,17 m/z
Lorazepam 1	320,97 → 275,13 m/z
Lorazepam 2	320,97 → 229,17 m/z

Midazolam-D <sub>4</sub>	330,17 → 295,11 m/z
Diazepam-D <sub>5</sub>	290,10 → 198,05 m/z
Flunitrazepam-D <sub>7</sub>	321,04 → 275,20 m/z
Clobazepam-D <sub>5</sub>	306,10 → 229,11 m/z
Nordiazepam-D <sub>5</sub>	276,00 → 140,14 m/z

Tabelle 4: Messbereiche der jeweiligen Benzodiazepine:

Midazolam	5 – 1300 µg/l
1-OH-Midazolam	8 – 2000 µg/l
Diazepam	12 – 3000 µg/l
Nordiazepam	8 – 1900 µg/l
Oxazepam	13 – 3200 µg/l
Temazepam	6 – 1500 µg/l
Clobazepam	5 – 1100 µg/l
Bromazepam	2- 450 µg/l
Lorazepam	2 – 500 µg/l
Clonazepam	0,7 – 160 µg/l
Flunitrazepam	0,2 – 36 µg/l
Nitrazepam	0,8– 200 µg/l

#### Reagenzien:

- Midazolam-D<sub>4</sub> Stammlösung
- Flunitrazepam-D<sub>7</sub> Stammlösung
- Diazepam-D<sub>5</sub> Stammlösung
- Nordiazepam-D<sub>5</sub>-Stammlösung
- Clobazam-D<sub>5</sub> Stammlösung
- Fentanyl-D<sub>5</sub> Stammlösung
- Interner-Standard-Mix bestehend aus den Stammlösungen
- Kaliumdihydrogenphosphat 1 M
- 0,1 M Phosphatpuffer mit 5 pH
- Beta-Glukoronidase-Lösung
- Mobile Phase A
- Mobile Phase B

**Kalibration:**

entfällt, da es sich hier um eine qualitative Methode handelt.

**Interne Qualitätskontrolle:**

Kontrolle negativ: Urin eines Probanden, der keine Benzodiazepine enthält.

Kontrolle positiv: Es wurde die Benzodiazepine HR Level II Serum Kontrolle (vom Hersteller Chromsystems) als Kontrollmaterial benutzt.

**Durchführung der Analytik:**

Probenaufbereitung:

Enzymatische Hydrolyse: 500 µl Patientenurin werden mit 50 µl Beta-Glucuronidase-Lösung gemischt und 20 min. bei 60 Grad inkubiert.

50 µl hydrolysierte Probe oder Kontrolle (Hydrolyse war nicht notwendig) + 125 µl Interner Standard-Mix werden 30 Sek. mit einem Vortexmischer gemischt und danach 5 min bei 14000 U/min zentrifugiert. Davon werden 100 µl überstand in Fläschchen ohne Inlay pipettiert und mit 1 ml Phasemix A/B (A 85%, B15%) versetzt, gemischt und 30 µl injiziert.

HPL-Chromatographie:

- Mobile Phase mit Psychopharmaka Phase A und B
- Als Trennsäule kam MZ-Aqua Perfect-C18-Säule (MZ-Analysentechnik, Mainz) zum Einsatz
- Der Flow betrug 0,6 ml/min
- Die Temperatur lag bei 45°C
- Das Injektionsvolumina waren 20 µl (Hirntod-MS-Methode) und 30 µl (Benzodiazepine Methode)

Massenspektrometrie:

- Die Ionisierung erfolgte mittels Elektrospray
- Die Auswertung der Messsignale erfolgt mit der TargetLynx-Software (Waters)

#### **3.4.4. Kreatininbestimmung und Quotient zum Signal der Benzodiazepinmethoden**

Das Urinkreatinin wurde enzymatisch mit dem Vista Clinical Chemistry Analyzer (Siemens Healthcare) bestimmt. Das Signal im Immunoassay wurde durch den jeweiligen Urin-Kreatininwert in der Probe dividiert, um Diureseschwankungen zu kompensieren. Das gleiche Vorgehen erfolgte mit den Signalen aus dem LC-MS-Verfahren. Verdünnte Urinproben mit einem Kreatininwert < 30 mg/ wurden nicht in die Auswertung aufgenommen.

#### **3.5. Darstellung der Daten und statistische Auswertung**

Die Daten wurden überwiegend deskriptiv ausgewertet. Untersucht wurde eine Übereinstimmung zwischen dem Immunoassay als Screening Methode und dem LC-MS/MS-Verfahren, Tandem-MS-Verfahren, als Bestätigungsverfahren zur Trendbeurteilung der Compliance während einer qualifizierten oxazepamgestützten Benzodiazepin-Entgiftungsbehandlung. So wurden insgesamt 143 Urinproben gleichzeitig mit dem Immunoassay-Verfahren als auch mit dem LC-MS-Verfahren taggleich eines jeden Patienten untersucht. Für das semiquantitative LC-MS-Verfahren wurden sowohl das Summensignal aller Benzodiazepine in der Probe als auch das Signal der einzelnen Benzodiazepine ausgewertet. Die Ergebnisse werden als Mittelwerte für das Gesamtkollektiv und für jeden Patienten individuell grafisch im Zeitverlauf dargestellt. Das semiquantitative Signal aus beiden Methoden ist immer auf das Kreatinin in den Urinproben normalisiert. Die Messzeitpunkte im Verlauf der einzelnen Patienten variierten. In einer weiteren Untersuchung wurde der Quotient der Signalthöhe Gesamt-LC-MS (Signal aller Benzodiazepine) zu der Signalthöhe des Immunoassays mit dem Quotienten der Signalthöhe der spezifischen Oxazepam-LC-MS und der Signalthöhe des Immunoassays verglichen. Dies dient der Darstellung der Kreuzreaktivität im Immunoassay, da die beiden Quotienten bei alleinigem Vorliegen von Oxazepam in der Probe identisch sein müssen.

Darüber hinaus wurden die Mediane der Signale im Immunoassay und der kumulierten LC-MS Signale, dies entspricht aller Benzodiazepin-Signale, die in dem LC-MS-Verfahren qualitativ detektiert wurden, sowie der Oxazepam-LC-MS-Signale gegenübergestellt. Gruppen wurden für gepaarte Stichproben mit dem Wilcoxon-Test verglichen. Das Signifikanzniveau zur Ablehnung der Nullhypothese wurde auf 0,05 festgelegt.

Eine Methodenvergleich zwischen dem Immunoassay und der LC-MS wurde mit den semiquantitativen Daten und dem Passing & Bablok-Verfahren durchgeführt. Das Verfahren nach Passing & Bablok ist ein lineares Regressionsverfahren ohne besondere Voraussetzungen bezüglich der Verteilung der Stichproben und der Messfehler. Das Passing & Bablok-Verfahren sollte nur auf Variablen angewendet werden, die eine lineare Beziehung haben und hoch miteinander korrelieren.

Es wurde außerdem der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman errechnet. Der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman ( $r_s$ ) ist das Maß des Zusammenhanges zwischen zwei qualitativen Variablen. Dieser kann Werte zwischen -1 und +1 einnehmen. Liegt der Wert bei 0 besteht keinerlei Zusammenhang.

Interpretation des Korrelationskoeffizienten:

$0,0 < r_s < 0,2$  -> kein bis geringer Zusammenhang

$0,2 < r_s < 0,5$  → schwacher bis mäßiger Zusammenhang

$0,5 < r_s < 0,8$  → deutlicher Zusammenhang

$0,8 < r_s < 1,0$  → hoher bis perfekter Zusammenhang

Cave: Einheitliche Richtlinien zur Bewertung des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman ( $r_s$ ) gibt es in der Literatur nicht. Die obige Einteilung ist als fließend zu bewerten und eher den Sachbezug einbeziehend.

Alle statistischen Auswertungen wurden mit der Software MedCalc (Oostende, Belgien) vorgenommen. Gruppenvergleiche wurde mit dem Mann-Whitney-U-Test durchgeführt, ein p-Wert < 0,05 galt als signifikant.

## 4. Ergebnisse

### 4.1. Darstellung des polytoxikomanes Patientenkollektiv

#### 4.1.1. Somatische Komorbiditäten

Eine Hepatitis C war bei 24 Patienten, entspricht 72%, bekannt. Kein Patient erhielt zum damaligen Zeitpunkt eine spezifische Hepatitis C Behandlung. Zwei Patienten waren Träger des HIV, entspricht 6%. Einer davon war mit einer antiretroviralen Medikation eingestellt (siehe Tabelle 5).

Tabelle 5: Somatische Erkrankungen

Patient	Alter	Geschlecht	Diagnose	Somatische Erkrankung
P1	131	M	Polytoxikomanie	Hepatitis C
P2	30	M	Polytoxikomanie	Hepatitis C
P3	30	W	Polytoxikomanie	Hepatitis C
P4	25	M	Polytoxikomanie	Hepatitis C
P5	38	M	Polytoxikomanie	Hepatitis C
P6	26	M	Polytoxikomanie	keine bekannt
P7	24	M	Polytoxikomanie	Arterielle Hypertonie
P8	36	M	Polytoxikomanie	Hepatitis C
P9	29	W	Polytoxikomanie	Hepatitis C
P10	22	M	Polytoxikomanie	nicht bekannt
P11	24	M	Polytoxikomanie	nicht bekannt
P12	38	M	Polytoxikomanie	Hepatitis C
P13	47	M	Polytoxikomanie	Hepatitis C
P14	39	W	Polytoxikomanie	Hepatitis C
P15	35	M	Polytoxikomanie	nicht bekannt
P16	46	M	Polytoxikomanie	Hepatitis C
P17	31	M	Polytoxikomanie	Hepatitis C
P18	24	M	Polytoxikomanie	nicht bekannt
P19	37	M	Polytoxikomanie	Hepatitis C

P20	38	M	Polytoxikomanie	Hepatitis C
P21	32	M	Polytoxikomanie	Hepatitis C
P22	45	M	Polytoxikomanie	Hepatitis C/HIV
P23	43	M	Polytoxikomanie	Hepatitis C
P24	44	M	Polytoxikomanie	Hepatitis C
P25	43	M	Polytoxikomanie	Hepatitis C
P26	29	M	Polytoxikomanie	Hepatitis C
P27	39	W	Polytoxikomanie	nicht bekannt
P28	28	M	Polytoxikomanie	Hepatitis C
P29	41	M	Polytoxikomanie	Hepatitis C/HIV
P30	55	M	Polytoxikomanie	Hepatitis C
P31	40	M	Polytoxikomanie	Hepatitis C
P32	34	W	Polytoxikomanie	Hepatitis C
P33	32	W	Polytoxikomanie	nicht bekannt

#### 4.1.2. Laborparameter

16 Patienten, entspricht 48%, zeigten im Routine-Aufnahmelabor erhöhte Leberwerte, entweder Erhöhung der GGT und/oder der GPT (ALT). Bei zwölf Patienten davon war eine Hepatitis C bekannt. Ein Patient, P 5, zeigte einen leicht erhöhten Kreatininwert von 1,4 mg/dl sowie eine leicht erniedrigte GFR von 57 ml/min im Aufnahmelabor, beide Parameter haben keinen Einfluss auf den Metabolismus und Ausscheidung von Benzodiazepinen. Bei zwei Patienten erfolgten keinerlei Laboruntersuchungen. Bei zwei weiteren Patienten wurden keine Kreatininwerte bestimmt. (Tabelle 7).

Tabelle 6: Leber- und Nierenwerte im Eingangslabor

Patient	ALT (<45U/l)	GGT (<55 U/l)	Kreatinin (0,6-1,2 mg/dl)
P1	148	92	0,8
P2	27	42	0,7
P3	46	28	0,7
P4	67	42	1
P5	30	12	1,4
P6	27	78	0,9
P7	53	16	1,1

<b>P8</b>	23	23	1
<b>P9</b>	31	14	0,7
<b>P10</b>	<b>49</b>	38	0,9
<b>P11</b>	37	31	1,1
<b>P12</b>	<b>73</b>	22	0,7
<b>P13</b>	19	31	0,8
<b>P14</b>	19	29	0,7
<b>P15</b>	17	50	0,8
<b>P16</b>	<b>120</b>	<b>228</b>	0,7
<b>P17</b>	<b>65</b>	54	kein Wert
<b>P18</b>	27	41	0,9
<b>P19</b>	40	34	0,8
<b>P20</b>	<b>376</b>	<b>112</b>	0,8
<b>P21</b>	<b>202</b>	43	0,7
<b>P22</b>	kein Wert	kein Wert	kein Wert
<b>P23</b>	<b>98</b>	<b>62</b>	1
<b>P24</b>	<b>70</b>	39	0,9
<b>P25</b>	38	32	kein Wert
<b>P26</b>	<b>253</b>	<b>148</b>	0,9
<b>P27</b>	30	40	0,7
<b>P28</b>	23	52	0,8
<b>P29</b>	kein Wert	kein Wert	kein Wert
<b>P30</b>	49	55	1
<b>P31</b>	<b>121</b>	<b>1094</b>	0,9
<b>P32</b>	<b>106</b>	<b>113</b>	0,7
<b>P33</b>	<b>120</b>	<b>68</b>	0,7

#### 4.1.3. Psychiatrische Komorbiditäten

Bei zwölf Patienten (36%) bestand zusätzlich eine vordiagnostizierte psychiatrische Komorbidität. Davon war die rezidivierend depressive Störung bei acht Patienten (66%) die häufigste vordiagnostizierte Komorbidität, gefolgt von den Diagnosen einer emotional instabilen Persönlichkeit vom Borderline-Typ bei zwei Patienten. Eine Panikstörung lag bei einem Patienten vor. Eine Panikstörung sowie ADHS und eine paranoid-halluzinatorische Psychose waren bei jeweils einem Patienten vorhanden. Bei zwei Patienten lagen psychiatrische

Doppeldiagnosen vor, nämlich eine rezidivierend depressive Störung sowie ADHS und eine rezidivierend depressive Störung und Panikstörung.

Vier Patienten mit einer vordiagnostizierten depressiven Störung wurden jeweils von ihren Substitutionsärzten mit einer antidepressiven Medikation bestehend aus Mirtazapin und Citalopram vorbehandelt. Ein Patient erhielt aufgrund der paranoid-halluzinatorische Psychose das Antipsychotikum Olanzapin (siehe Tabelle 8).

Tabelle 7: Psychiatrische Komorbiditäten

<b>Patient</b>	<b>Psychiatrische Komorbidität/-en und Vormedikation</b>
<b>P1</b>	nicht bekannt
<b>P2</b>	Rezidivierend depressive Störung, ADHS; keine Medikation
<b>P3</b>	nicht bekannt
<b>P4</b>	nicht bekannt
<b>P5</b>	nicht bekannt
<b>P6</b>	Paranoid-halluzinatorische Psychose; Olanzapin
<b>P7</b>	nicht bekannt. Arterielle Hypertonie, Ramipril
<b>P8</b>	Rezidivierend depressive Störung
<b>P9</b>	Emotional instabile Persönlichkeit vom Borderline-Typ
<b>P10</b>	nicht bekannt
<b>P11</b>	nicht bekannt
<b>P12</b>	nicht bekannt
<b>P13</b>	Rezidivierend depressive Störung; keine Medikation
<b>P14</b>	Emotional instabile Persönlichkeit vom Borderline-Typ; Mirtazapin
<b>P15</b>	nicht bekannt
<b>P16</b>	nicht bekannt
<b>P17</b>	Rezidivierend depressive Störung und Panikstörung
<b>P18</b>	nicht bekannt
<b>P19</b>	nicht bekannt
<b>P20</b>	nicht bekannt
<b>P21</b>	Rezidivierend depressive Störung; Citalopram
<b>P22</b>	Rezidivierend depressive Störung;
<b>P23</b>	Nicht bekannt
<b>P24</b>	nicht bekannt
<b>P25</b>	nicht bekannt

<b>P26</b>	Nicht bekannt
<b>P27</b>	Rezidivierend depressive Störung; Mirtazapin
<b>P28</b>	nicht bekannt
<b>P29</b>	Angst und Depression, gemischt
<b>P30</b>	nicht bekannt
<b>P31</b>	nicht bekannt
<b>P32</b>	nicht bekannt
<b>P33</b>	Rezidivierend depressive Störung; Citalopram

#### **4.2. Zeitpunkte der Probensammlung und Anzahl der Patienten**

Bei allen 33 Patienten erfolgte eine initiale Urinsammlung zur Benzodiazepin-Messung mit dem Immunoassay und dem LC-MS-Verfahren für Benzodiazepine sowie für das Drogenscreening mit dem Toxyper. Bei allen 33 Patienten konnte eine zweite Urinsammlung und Messung durchgeführt werden. Bei 27 Patienten konnte eine dritte Urinsammlung und Messung durchgeführt werden. Bei 19 Patienten konnte eine vierte Urinsammlung und Messung erfolgen, bei 13 Patienten erfolgte eine fünfte Urinsammlung und Messung, bei sechs Patienten eine sechste Urinsammlung und Messung, bei vier Patienten, nämlich bei P 8, P 15, P 27 und P 31, eine siebte Urinsammlung und Messung, bei zwei Patienten, bei P15 sowie P 31, eine achte Urinsammlung und Messung und bei P 31 eine neunte Urinsammlung und Messung. Die Abstände zwischen den Urinsammlungen variierten jedoch stark bei den individuellen Patienten. So fand z.B. eine dritte Messung, bei einem Patienten am fünften Tag statt, bei einem anderen Patienten fand die dritte Messung jedoch erst am 18. Tag statt (Abbildung 2).

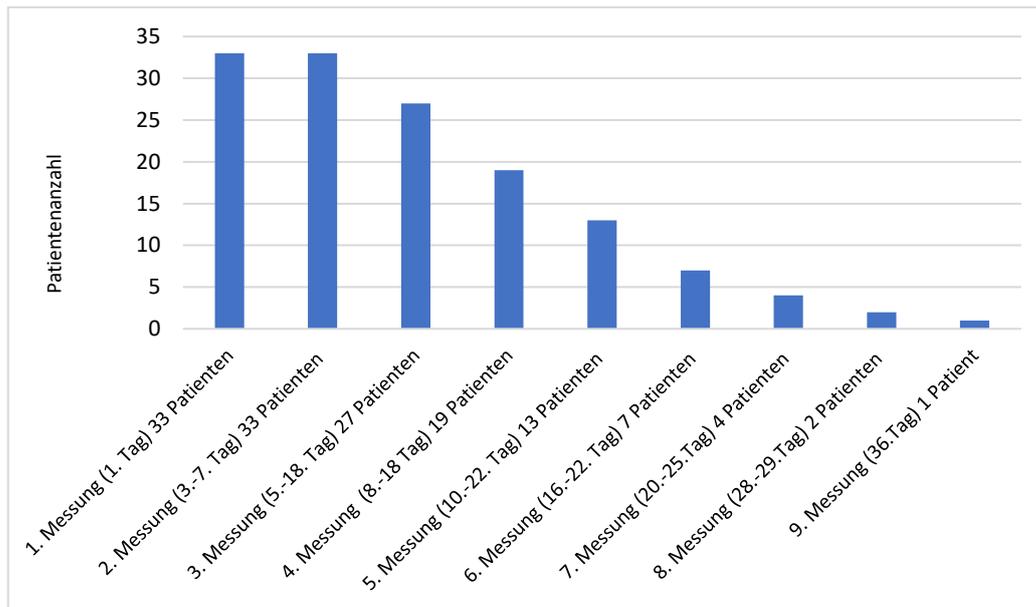


Abbildung 2. Anzahl und Zeitpunkte der Urinsammlung, Anzahl der Patienten und durchgeführte Messungen zu den jeweiligen Zeitpunkten

### 4.3. Zusätzliche Substanzen in den Eingangsurinen

25 Patienten, entspricht 76%, befanden sich in ambulanter Substitution und wurden über den Substitutionsarzt stationär eingewiesen. 20 Patienten hatten in den Eingangsurinen positive Befunde auf Methadon, davon befanden sich 18 Patienten in Substitution. Bei zehn Patienten fand sich Buprenorphin, davon befanden sich sieben Patienten in Substitutionsbehandlung. Bei 22 Patienten fand sich Pregabalin, davon befanden sich 18 Patienten in Substitution. In diesem substituierten Patientenkollektiv war Pregabalin die zweit häufigste Beikonsumsubstanz nach den Benzodiazepinen. Sogenanntes „Strassenheroin“, welches aus Diacetylmorphin, 6-Acetylcodein und deren Abbauprodukte wie 6-Acetylmorphin, Morphin sowie Codein und den Begleitsubstanzen wie unter anderen Noscopin und Mekonin besteht, fanden sich bei neun Patienten, davon waren acht Patienten substituiert. Bei weiteren acht Patienten zeigten sich positive Befunde auf Cannabis, davon befanden sich sechs Patienten in Substitutionsbehandlung. Bei sieben Patienten fanden sich Kokain/Amphetamine, davon waren sechs Patienten substituiert. Bei drei Patienten zeigten sich

positive Ethanolwerte im Urin, alle drei befanden sich Substitution (siehe Tabelle 9).

Tabelle 9: Zusätzliche Substanzen OHNE Benzodiazepine in den Eingangsurinen mit **ambulant ärztlich verordneter Medikation**

Patient	Zusätzliche Substanzen im Aufnahme Drogenurinscreening
P1	Methadon, Codein, 6-Acetmorphin, Morphin, Pregabalin (substituiert)
P2	Methadon, Cannabis, Ethanol 1,54 g/l (substituiert)
P3	Methadon, Promethazin, Pregabalin (nicht substituiert)
P4	Methadon, Morphin, Promethazin, Pregabalin (substituiert)
P5	Buprenorphin, Pregabalin, Promethazin (nicht substituiert)
P6	Methadon, Amphetamine, MDMA, MDA, Cannabis, Olanzapin (nicht substituiert)
P7	Ramipril (nicht substituiert)
P8	Methadon, Buprenorphin, Cannabis, Mirtazapin (substituiert)
P9	Methadon, Pregabalin (substituiert)
P10	Methadon, Codein, Morphin, Amphetamin, MDMA, Kokain, Pregabalin (substituiert)
P11	Buprenorphin, Pregabalin (nicht substituiert)
P12	Buprenorphin, Pregabalin, Codein, 6-Acetmorphin, Morphin, Mekonin (substituiert)
P13	Methadon, Kokain, Amphetamin, Pregabalin (substituiert)
P14	Methadon, Codein, Morphin, Mirtazapin (substituiert)
P15	Methadon, Codein, Morphin, Pregabalin, Cannabis, Ethanol 1,37 g/l (substituiert)
P16	Buprenorphin, Cannabis, Pregabalin (substituiert)
P17	Opiate, Pregabalin (nicht substituiert)
P18	Methadon (substituiert)
P19	Opiate, Pregabalin, Cannabis (nicht substituiert)
P20	Codein, 6-Acetmorphin, Morphin, Mekonin, Noscadin (nicht substituiert)
P21	Methadon, Codein, 6-Acetmorphin, Morphin, Pregabalin, Kokain, Citalopram (substituiert)
P22	Buprenorphin, Pregabalin, Kokain, Cannabis (substituiert)
P23	Methadon, Doxepin, Pregabalin (substituiert)
P24	Buprenorphin, Pregabalin, Kokain (substituiert)
P25	Methadon (substituiert)

<b>P26</b>	<b>Methadon</b> , 6-Acetmorhin, Morphin, Kokain, Meth-Amphetamin, MDMA, Mirtazapin, <b>Citalopram</b> (substituiert)
<b>P27</b>	<b>Methadon</b> , <b>Mirtazapin</b> (substituiert)
<b>P28</b>	<b>Methadon</b> , Morphin, Mekonin, Pregabalin (substituiert)
<b>P29</b>	<b>Methadon</b> , Cannabis, Pregabalin (substituiert)
<b>P30</b>	<b>Buprenorphin</b> , Trimipramin, Pregabalin (substituiert)
<b>P31</b>	<b>Buprenorphin</b> , Pregabalin, Ethanol 0,74 g/l (substituiert)
<b>P32</b>	<b>Buprenorphin</b> , Pregabalin (substituiert)
<b>P33</b>	<b>Methadon</b> , Pregabalin, Escitalopram (substituiert)

#### 4.4. Benzodiazepin-Beigebrauch im Eingangsscreening

Im folgenden Diagramm (Abbildung 3) sind die einzelnen Benzodiazepine in den Eingangsurinen bei den jeweiligen Patienten dargestellt. So fanden sich bei 32 Patienten in den Eingangsurinen mit der LC-MS-Messung ein positiver Befund auf Oxazepam, bei 29 Patienten ein positiver Befund auf Diazepam, bei 24 Patienten ein positives Ergebnis auf Nordiazepam, bei 31 Patienten zeigten sich positive Werte auf Temazepam, bei jeweils zwei Patienten positive Werte auf Alprazolam sowie Bromazepam. Lorazepam ließ sich bei sechs Patienten nachweisen und auf Flunitrazepam wurde ein Patient positiv getestet. Zu diesem Zeitpunkt war noch kein Patient im Rahmen des Programms therapiert.

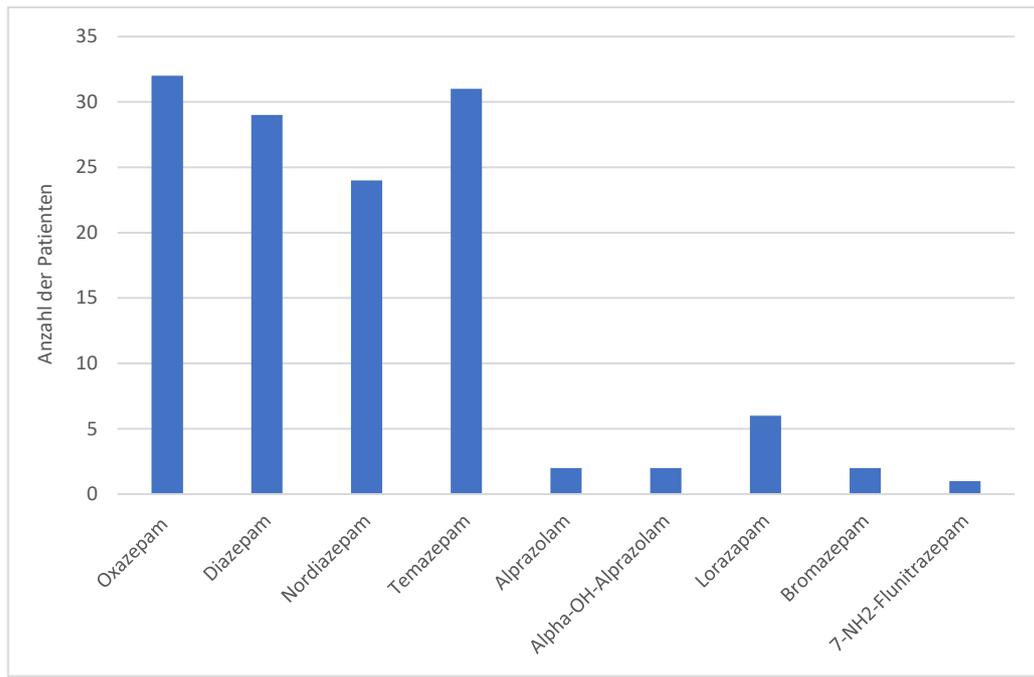


Abbildung 3. Die einzelnen Benzodiazepine gemessen mit dem LC-MS-Verfahren in den Eingangsurinen im Gesamt-Patienten-Kollektiv

#### 4.5. Verlauf der Signalstärken im Immunoassay über den Beobachtungszeitraum im gesamten Patientenkollektiv

In Abbildung 4 werden die Mittelwerte der Signalstärken im Immunoassay der Patienten bezogen auf die jeweilige Anzahl der Patienten und den Urinkreatininwert im Verlauf dargestellt. Die Signalstärken waren bis zur dritten Messung stabil aufgrund der zu diesem Zeitpunkt schon begonnenen externen Zufuhr von Oxazepam sowie dem Metabolismus einiger Benzodiazepine. Danach findet bis zur fünften Messung ein kontinuierlicher Abfall statt. Ab der fünften bis zur siebten Messung zeigen sich nur leichte Signalschwankungen mit einem leichten Anstieg in der achten Messung, um bis zur neunten Messung deutlich abzusinken. Hierbei ist zu beachten, dass die Anzahl der Patienten, die eine Urinprobe abgegeben hatten mit der Anzahl der Messungen abnahm. Bei der neunten Messung handelt es sich nur um die Probe eines Patienten.

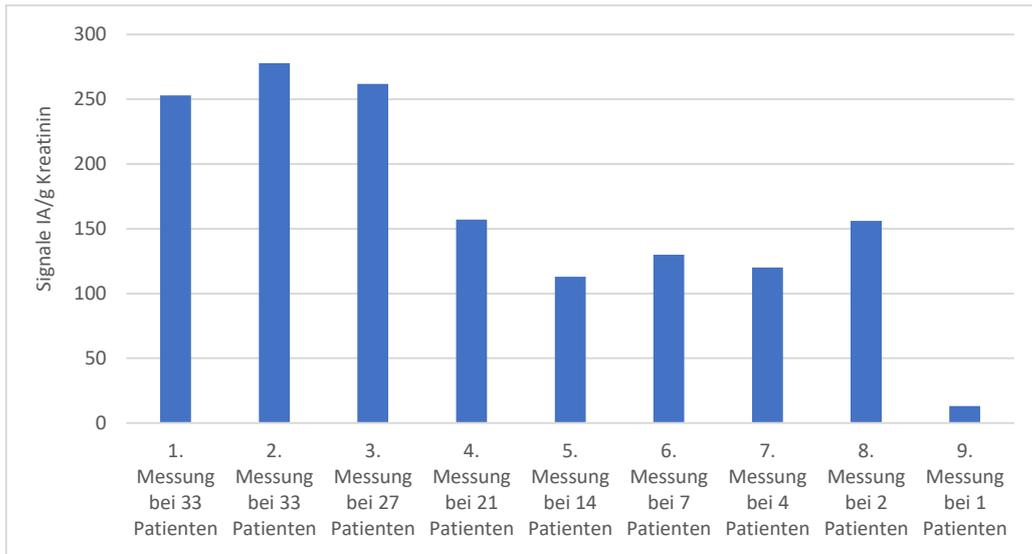


Abbildung 4. Mittelwerte Signalstärken im Benzodiazepin-Gruppentest zu den einzelnen Untersuchungszeitpunkten (Messignal auf Kreatinin normalisiert)

#### 4.6. Semiquantitativer Verlauf der Mittelwerte der LC-MS-Signale aller Benzodiazepine über den Beobachtungszeitraum im gesamten Patientenkollektiv

In Abbildung 5 sind die Mittelwerte der Signalstärke der gesamten Benzodiazepine gemessen mit dem LC-MS-Verfahren dargestellt. Bis zur dritten Messung ist die Gesamt-Signalstärke fast unverändert, da sowohl ein kontinuierlicher Abbau der Benzodiazepine als auch die Oxazepam-Zufuhr von außen erfolgt. Ab der vierten Messung erfolgt ein kontinuierlicher Abfall wegen der Metabolisierung und Ausscheidung der ursprünglich vorhandenen Benzodiazepine und der kontinuierlichen Abdosierung während der oxazepamgestützten Entgiftung. In der siebten und achten Messung erscheint ein massiver Anstieg aufgrund einer zusätzlichen Einnahme von Diazepam, Temazepam, Clonazepam sowie Lorazepam von P 15, der sich wegen des geringen Patientenkollektives von vier bzw. zwei Patienten deutlich bemerkbar macht.

Im Vergleich zu den Immunoassaydaten fällt der Signaleinbruch bei der fünften auf die sechste Messung sowie der erwähnte deutliche Signalanstieg von der siebten auf die achte Messung auf, der so im Immunoassay nicht zu sehen

ist. Dies zeigt, dass der Immunoassay, wie zu erwarten, durch die Kreuzreaktion zu anderen Benzodiazepinen ein Mischsignal ergibt. Auch das LC-MS-Signal war ein Mischsignal, aber im Unterschied zum Immunoassay gibt es hier keine Kreuzreaktionen.

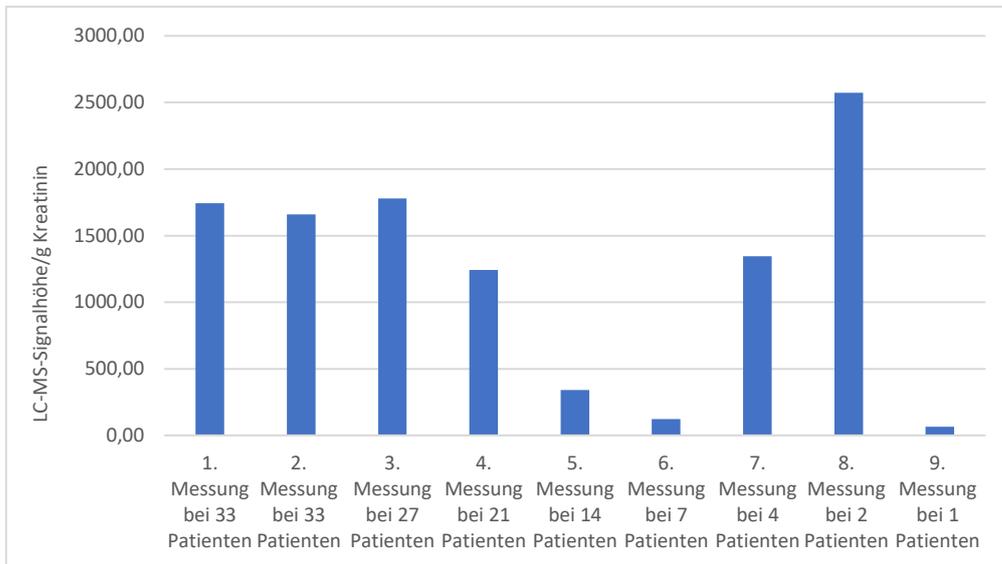


Abbildung 5. Mittelwerte Signalstärke mit der LC-MS zu den einzelnen Untersuchungszeitpunkten (Signale auf Kreatinin normalisiert)

#### 4.7. Vergleich Mediane der Signale im Immunoassay und der LC-MS

Wenn man die Mediane der Messungen über den Beobachtungszeitraum vergleicht, fällt wieder auf, dass es besonders in der Anfangsphase der Entgiftungsbehandlung deutliche Unterschiede gibt. Im Immunoassay unterschieden sich die Mediane in den ersten zwei Messungen nicht statistisch unterschiedlich, zur dritten Messung fällt das Signal signifikant ab (Abbildung 6).

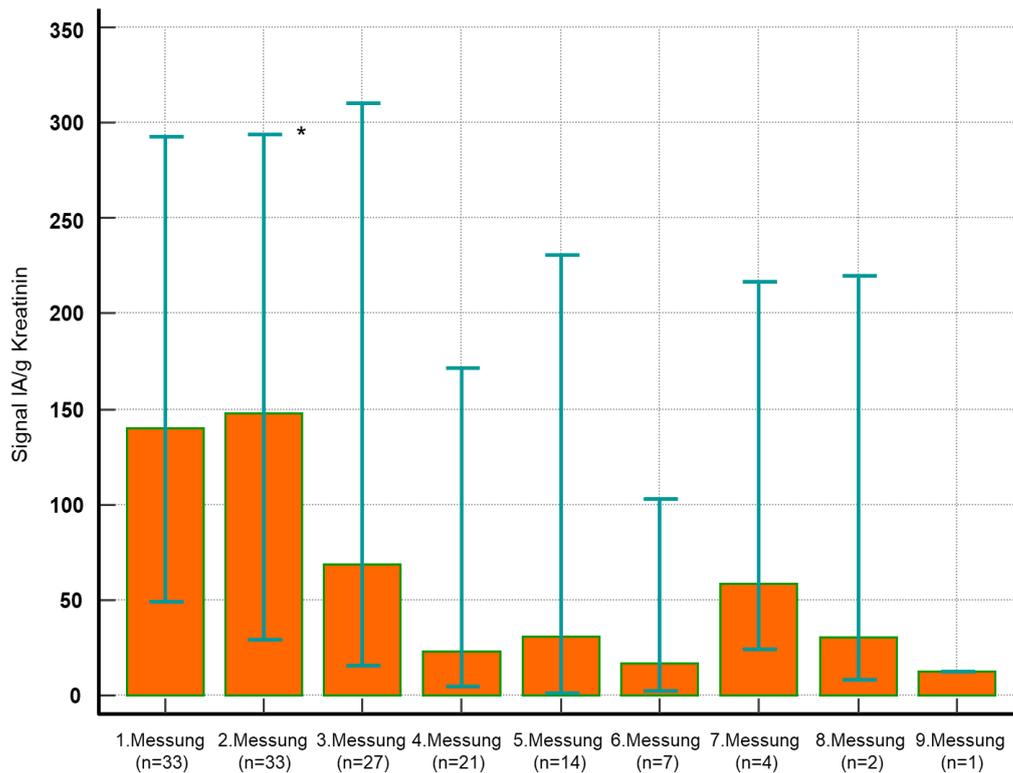


Abbildung 6. Median (25.-75. Perzentile) der Signalstärke des Immunoassays zu den einzelnen Untersuchungszeitpunkten (Signale auf Kreatinin normalisiert; \* $p < 0,05$  vs. Messung 4,5,6; IA=Immunoassay)

Bei der LC-MS steigt das Signal im Median von der ersten bis zur dritten Messung an (Abbildung 7).

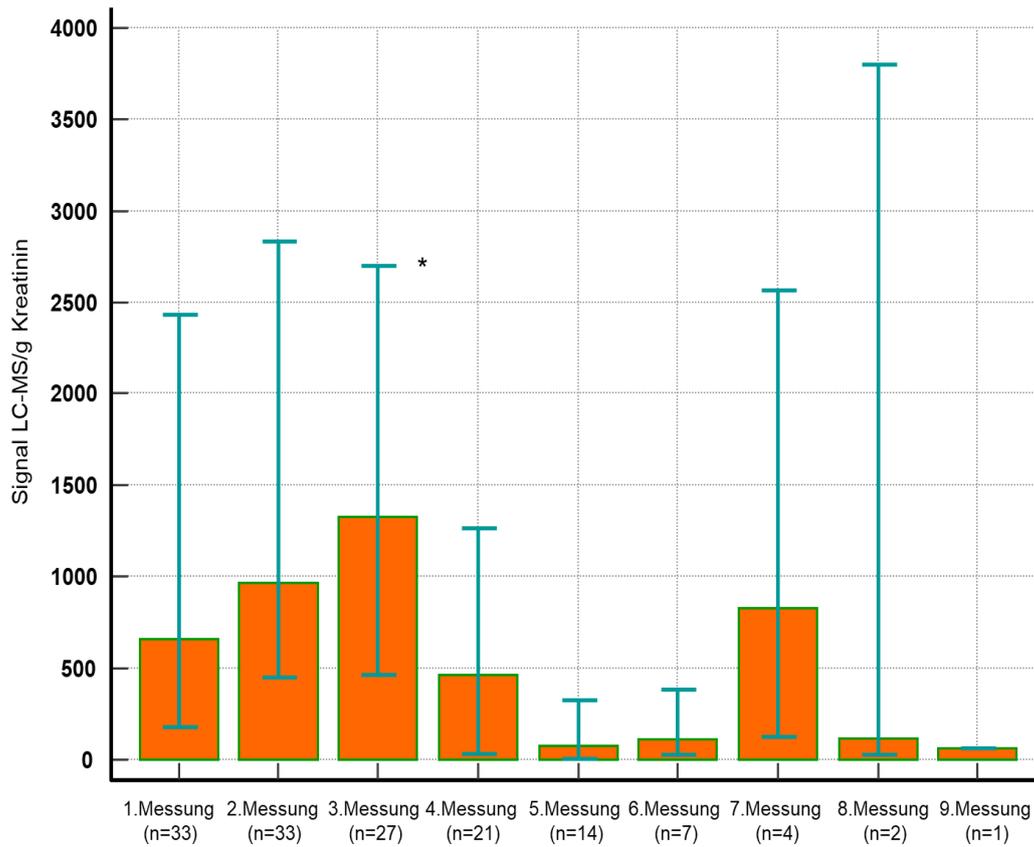


Abbildung 7. Median (25.-75. Perzentile) der Signalstärke aller Benzodiazepine mit der LC-MS zu den einzelnen Untersuchungszeitpunkten (Signale auf Kreatinin normalisiert, \* $p < 0,05$  vs. Messung 4,5,6)

Wie in Abbildung 7 zu sehen, ist das LC-MS Gesamtsignal hauptsächlich auf den dominierenden Effekt von Oxazepam zurückzuführen, da sich der Verlauf der Oxazepam Mediane mit den Medianen LC-MS Gesamtsignal deckt. Dies zeigt wiederum, dass mit dem Immunoassay die Verhältnisse nicht korrekt erfasst werden.

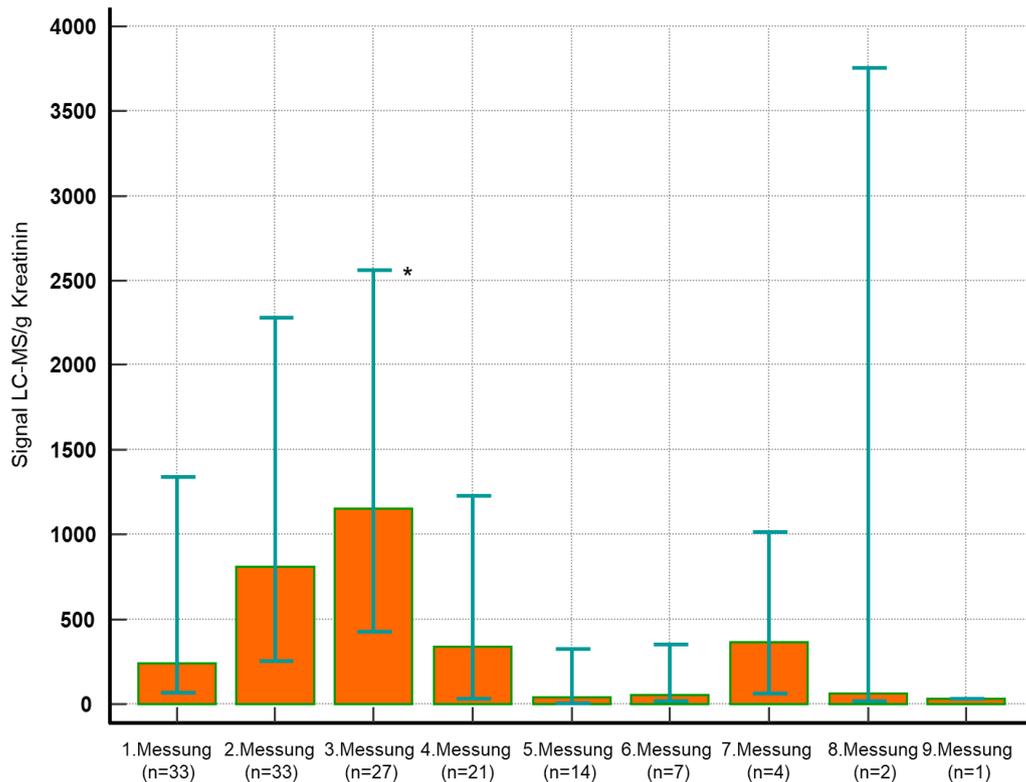


Abbildung 8. Median (25.-75. Perzentile) der Oxazepam Signalstärke mit der LC-MS zu den einzelnen Untersuchungszeitpunkten (Signale auf Kreatinin normalisiert, \* $p < 0,05$  vs. Messung 4,5,6)

Die Einnahme von Oxazepam von einem Patienten in der Phase der Abdosierung ist in allen Verlaufsbeobachtungen zu sehen, der Rückgang des Signals aber deutlich schneller mit der LC-MS. Die kumulierten Signale in der LC-MS liegen erwartungsgemäß höher als die Signale nur mit Oxazepam, da bei allen Patienten noch andere Benzodiazepine als Oxazepam im Urin zu finden waren.

#### 4.8. Semiquantitativer Verlauf der Einzelbenzodiazepine über den Beobachtungszeitraum gemessen mit der LC-MS-Methode im gesamten Kollektiv

##### 4.8.1. Semiquantitativer Verlauf der Oxazepam-Signalstärke über den Beobachtungszeitraum

In der Abbildung 9 ist der Mittelwert des Oxazepamsignals in der LC-MS pro Patienten dargestellt. In der initialen Urinuntersuchung vor Einleitung der oxazepamgestützten Entgiftung fand sich schon bei 32 Patienten Oxazepam. Bis zur dritten Messung fand ein allmählicher Anstieg von Oxazepam statt aufgrund der oxazepamgestützten Entgiftung sowie durch den fortschreitenden körpereigenen Abbau von Diazepam zu Nordiazepam und Temazepam, die im Eingangsscreening bei der Mehrzahl der Patienten gefunden wurden. Die anschließende sukzessive Reduktion der Oxazepamdosis ging dann mit einem kontinuierlichen Abfall der Oxazepam-Signalstärke einher. Aufgrund der externen Diazepam-Einnahme von P 15 zeigt sich ein Anstieg von der sechsten zur siebten Messung, der in der achten Messung seinen Höchstwert erreicht (Abbildung 9), da Oxazepam über Nordiazepam und Temazepam aus Diazepam gebildet wird.

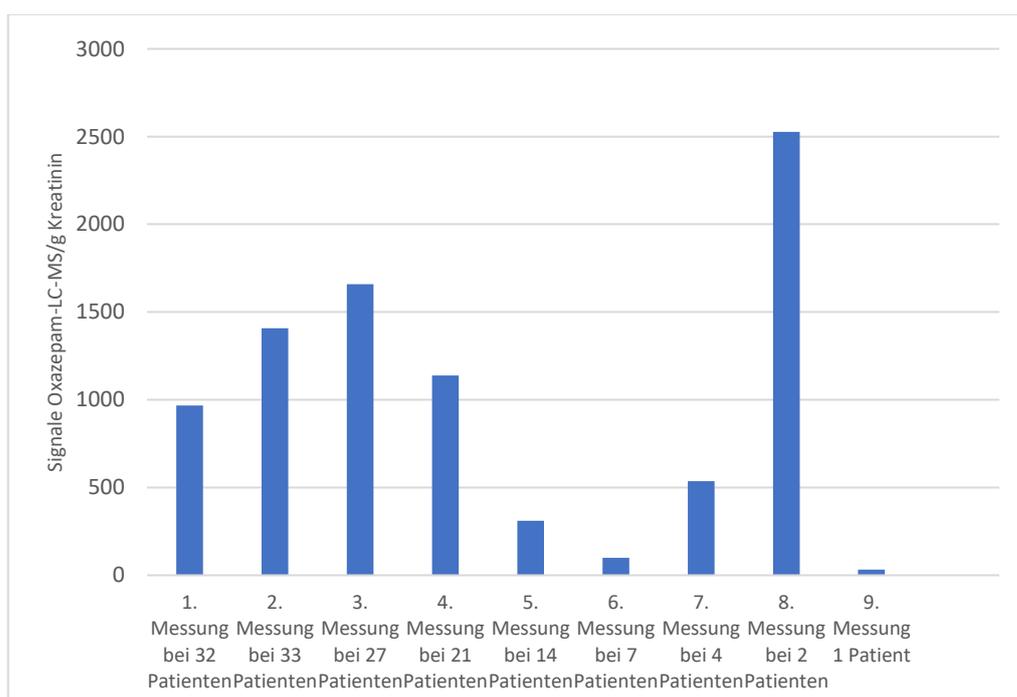


Abbildung 9. Mittelwerte des Oxazepamsignals in der LC-MS zu den einzelnen Untersuchungszeitpunkten (Signale auf Kreatinin normalisiert)

#### 4.8.2. Semiquantitativer Verlauf der Diazepam-Signalstärke über den Beobachtungszeitraum

In der Eingangsurin-Untersuchung fand sich bei 29 Patienten Diazepam. Die Diazepamsignale waren gemessen in der LC-MS sehr niedrig im Gegensatz zu den anderen Benzodiazepinen. Dies könnte an der länger zeitlich zurückliegenden externen Einnahme von Diazepam mit einer HWZ von 24 – 48 h und seinen aktiven Metaboliten Nordiazepam mit einer HWZ von 36 – 200 h sowie Temazepam mit einer HWZ von 5 – 13 h liegen. Im Verlauf kommt es zu einem sukzessiven Abfall von Diazepam bis zur sechsten Messung. Aufgrund der externen Zufuhr von Diazepam von P 15 kommt es zu einem signifikanten Anstieg in der siebten Messung gefolgt von einem Abfall in der achten Messung. In der neunten Messung war das initial nachgewiesene Diazepam bei P 31 nicht mehr nachweisbar (Abbildung 10).

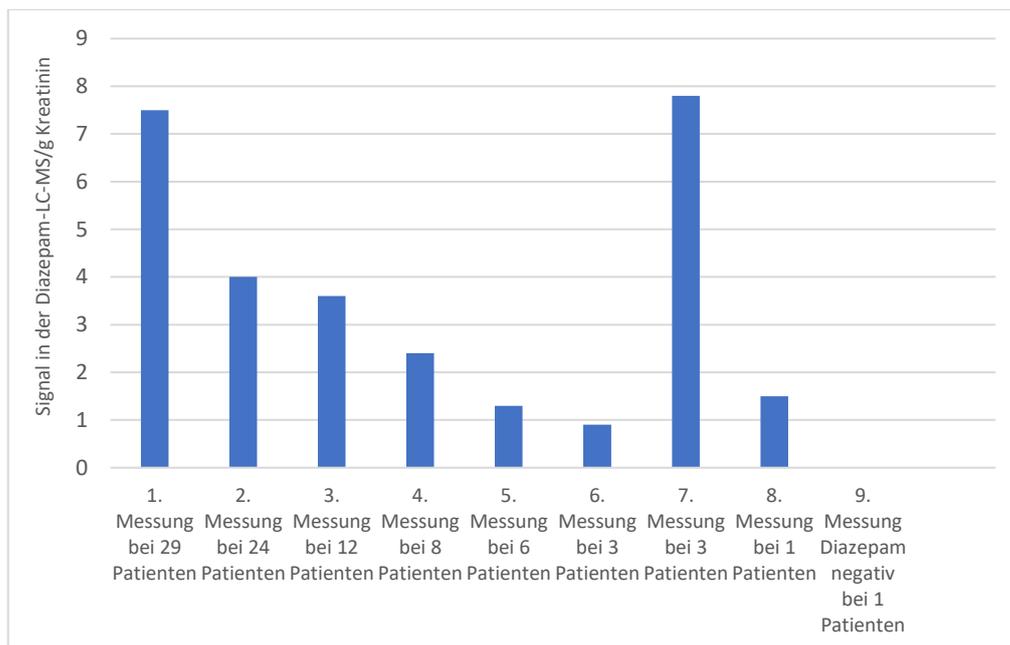


Abbildung 10. Mittelwert des Diazepamsignals in der LC-MS zu den einzelnen Untersuchungszeitpunkten (Signale auf Kreatinin normalisiert)

#### **4.8.3. Semiquantitativer Verlauf der Nordiazepam-Signalstärke über den Beobachtungszeitraum**

In der Eingangsurin-Untersuchung fand sich bei 25 Patienten Nordiazepam. Da dieses in Deutschland nicht mehr im Handel erhältlich ist, ist der Nachweis höchstwahrscheinlich auf die externe orale Diazepameinnahme als sein aktiver Metabolit Nordiazepam zurückzuführen. Dies erscheint auch bezogen auf die relativ geringen Signalstärken in der Nordiazepam-LC-MS trotz einer sehr langen Halbwertszeit von 36 – 200 h im Gegensatz zu den 20-fachen Signalstärken in der Temazepam-LC-MS plausibel, dass Nordiazepam als Abbauprodukt des Diazepams zu werten ist und nicht als Einzelsubstanz eingenommen wurde. Es zeigen sich bis zur fünften Messung nur leicht schwankende Werte zwischen 28 und 41 Signalstärke, was auf den Metabolismus des Diazepams und der langen HWZ zurückgeführt werden kann. In der sechsten Messung zeigt sich ein deutlicher Abfall der Nordiazepam-Signalstärke zur fünften Messung. In der siebten Messung erreicht die Signalstärke einen Höhepunkt, der auf die externe Benzodiazepin-Einnahme von P 15 schließen lässt. Im Verlauf kommt es bis zur neunten Messung zu einem erneuten allmählichen Abfall der Signalstärke. Bis auf P 15 zeigen sich kontinuierlich langsam abfallende Nordiazepam-Werte in den Verlaufsmessungen. Insbesondere bei P 31 zeigt sich auch in der neunten Messung eine signifikante Nordiazepam-Signalthöhe, die am ehesten auf die lange HWZ und die gleichzeitige Leberfunktionsstörung von P 31 zurückzuführen ist. (Abbildung 11).

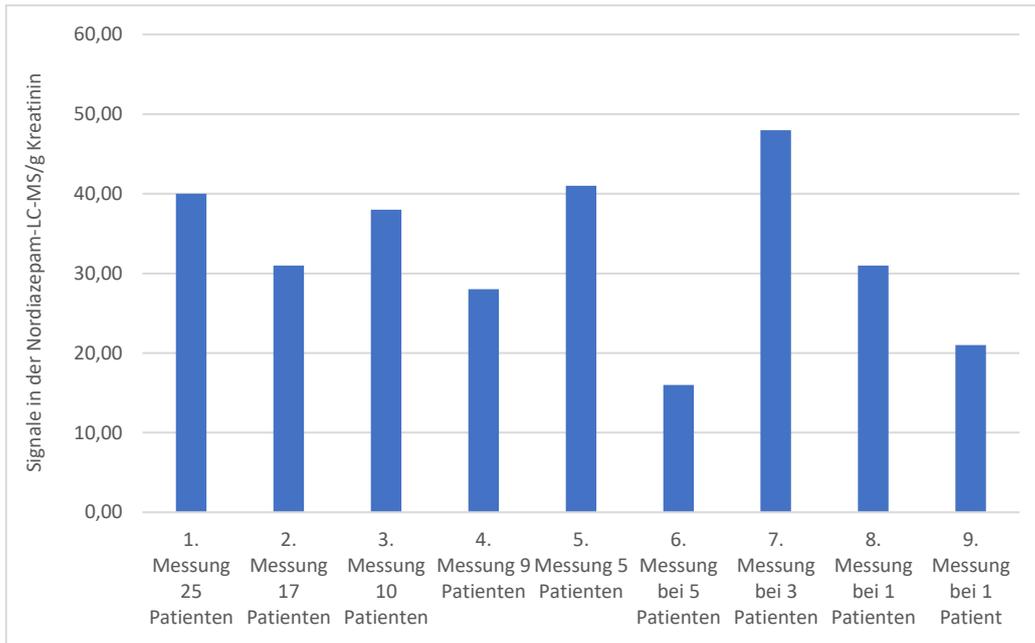


Abbildung 11. Mittelwerte der Signalstärke in der Nordiazepam-LC-MS zu den einzelnen Untersuchungszeitpunkten (Signale auf Kreatinin normalisiert)

#### 4.8.4. Semiquantitativer Verlauf der Temazepam-Signalstärke über den Beobachtungszeitraum

In der initialen Urinuntersuchung fanden sich bei 30 Patienten positive Befunde auf Temazepam. Insgesamt zeigt Temazepam von allen untersuchten Benzodiazepinen die höchsten Signale in der LC-MS, was einerseits auf die Verfügbarkeit als Einzelsubstanz andererseits als aktiver Metabolit von Diazepam zu werten ist. In der zweiten Messung zeigte sich bei gleichbleibender Patientenzahl insgesamt ein deutlicher Abfall in der Signalthöhe, was am ehesten auf die mittellange Halbwertszeit von 5 – 13 nachvollziehbar erscheint. In der dritten und vierten Messung bzw. fünften und sechsten Messung verbleiben die Signalthöhen auf einem fallenden und niedrigen Signalthöhen-Niveau. Aufgrund des externen Benzodiazepin Beikonsums unter anderem von Diazepam und wahrscheinlich Temazepam von P 15 kam es in der siebten Messung zu einem Höhepunkt in der Signalthöhe, um anschließend in der achten Messung rasch wieder abzufallen. Auch in der neunten Messung zeigte sich bei P 31 bei gleichzeitigem kontinuierlichem Abfall eine Signalthöhe

für Temazepam mit der LC-MS am ehesten bedingt durch die bestehende Leberfunktionsstörung und Speicherung von Diazepam und Temazepam im Fettgewebe (Abbildung 12).

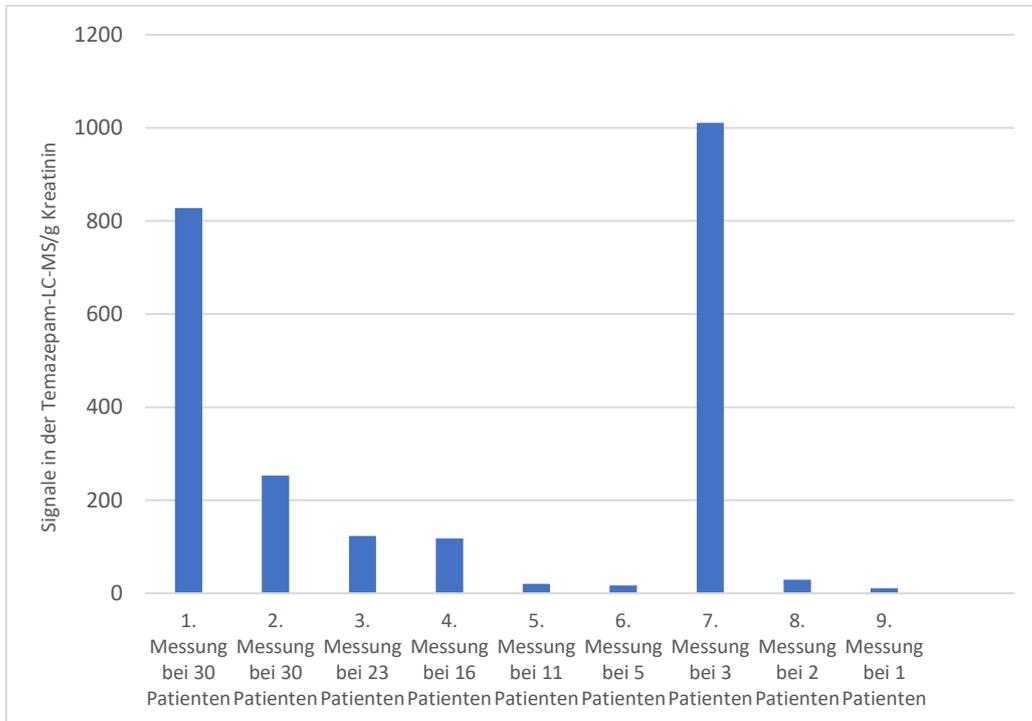


Abbildung 12. Mittelwerte der Signalstärke in der Temazepam-LC-MS zu den einzelnen Untersuchungszeitpunkten (Signale auf Kreatinin normalisiert)

#### 4.8.5. Semiquantitativer Verlauf der Lorazepam-Signalstärke über den Beobachtungszeitraum

In den Eingangsurinen fanden sich bei fünf Patienten positive Werte für Lorazepam. Im Verlauf kommt es bis zur vierten Messung zu einem raschen Abfall der Lorazepam-Signalhöhe. Bei zuvor negativen Lorazepam-Werten kommt es in der siebten Messung ausschließlich bei P 15 zu einem deutlichen Anstieg der Signalhöhe, was auf die externe Lorazepam-Einnahme schließen lässt (Abbildung 13).

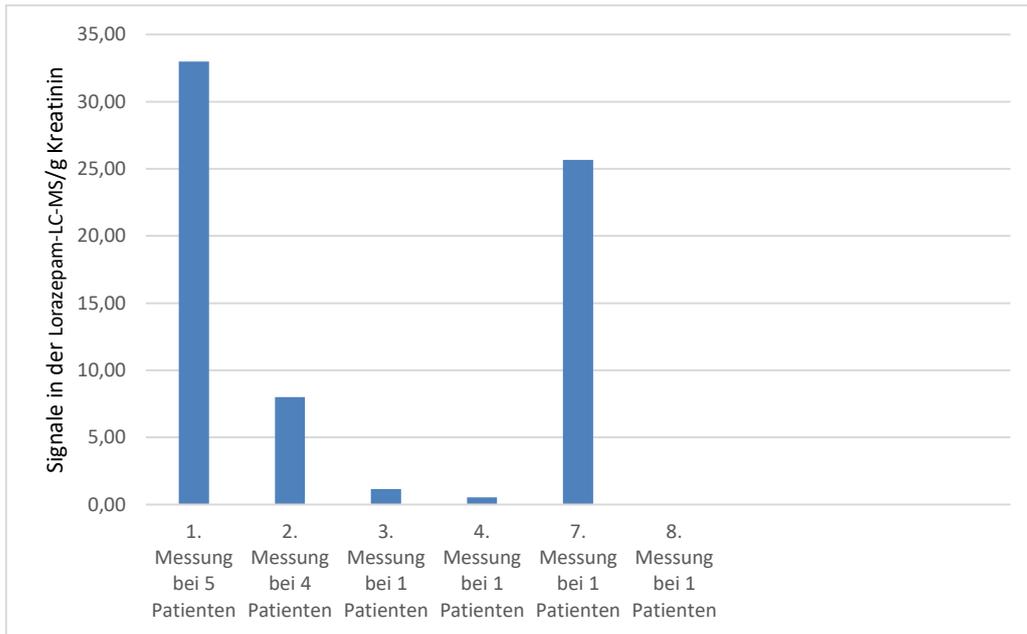


Abbildung 13. Mittelwerte des Signalstärke in der Lorazepam-LC-MS zu den einzelnen Untersuchungszeitpunkten (Signale auf Kreatinin normalisiert)

#### 4.8.6. Semiquantitativer Verlauf der Alprazolam-Signalstärke über den Beobachtungszeitraum

Im Eingangsurin fanden sich bei zwei Patienten, nämlich bei P 8 und P 33, positive Befunde auf Alprazolam. Bei P 8 war in der zweiten Messung noch ein geringes Signal in der LC-MS nachweisbar, dies entsprach dem achten Tag. Bei P 33 zeigte sich in der vierten Messung eine geringe Signalstärke, diese Messung fand ebenfalls am achten Tag nach Aufnahme statt (Abbildung 14).

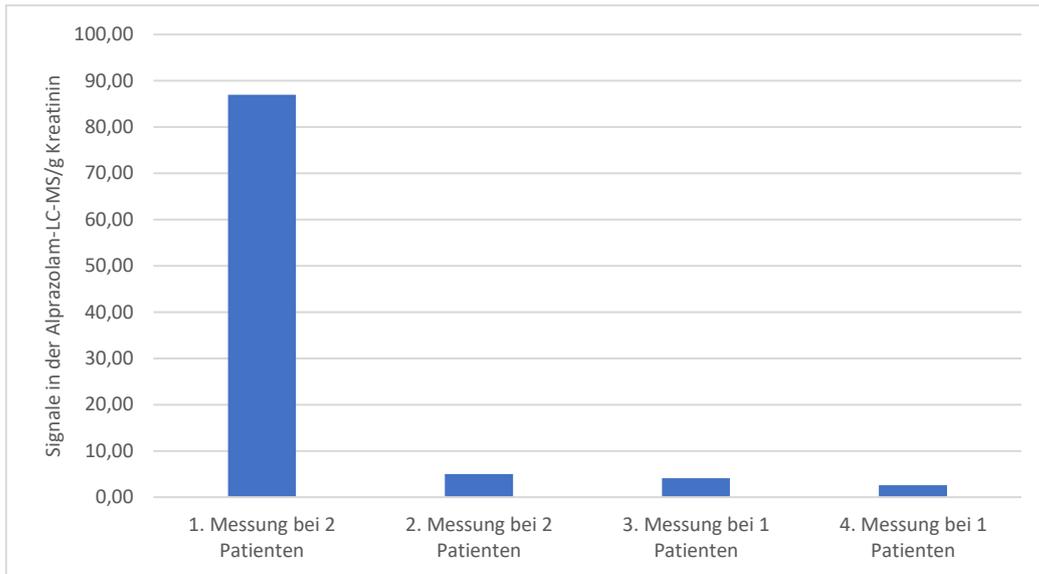


Abbildung 14. Mittelwerte der Signalstärke in der Alprazolam-LC-MS zu den einzelnen Untersuchungszeitpunkten (Signale auf Kreatinin normalisiert)

#### 4.8.7. Semiquantitativer Verlauf der Bromazepam-Signalstärke über den Beobachtungszeitraum

Bei zwei Patienten zeigten sich im Eingangsurin positive Befunde auf Bromazepam. Es fand sich ein deutlicher Abfall zur zweiten Messung, dies entspricht dem dritten bzw. vierten Tag nach Aufnahme (Abbildung 15).

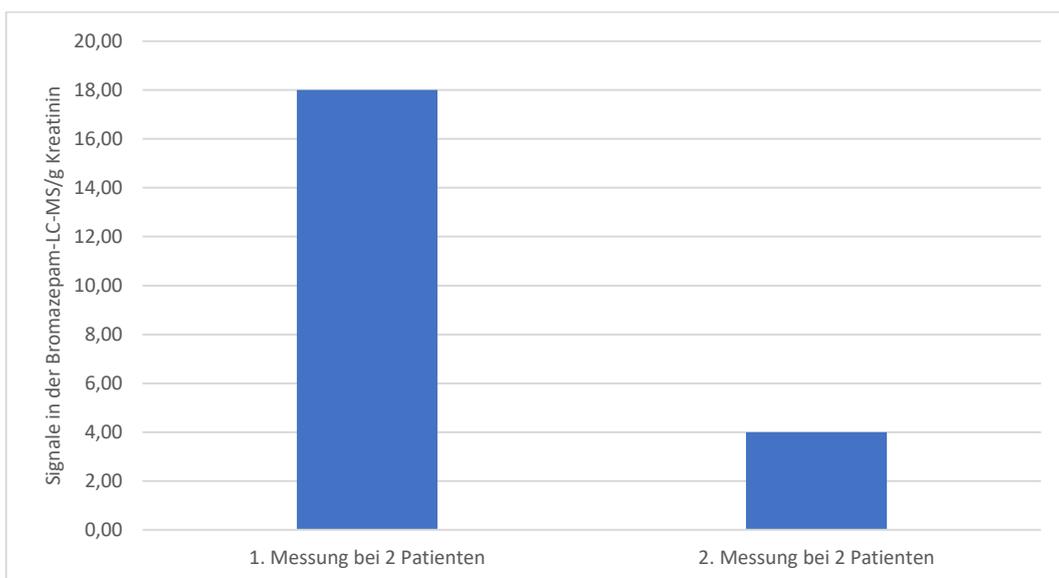


Abbildung 15. Mittelwerte der Signalstärke in der Bromazepam-LC-MS zu den einzelnen Untersuchungszeitpunkten (Signale auf Kreatinin normalisiert)

#### 4.8.8. Semiquantitativer Verlauf der Flunitrazepam -Signalstärke über den Beobachtungszeitraum

Bei einem Patienten gab es ein positiver Befund auf Flunitrazepam. Im Verlauf zeigt sich ein deutlicher kontinuierlicher Abfall bis zur dritten Messung, welche dem achten Tag nach Aufnahme entspricht.

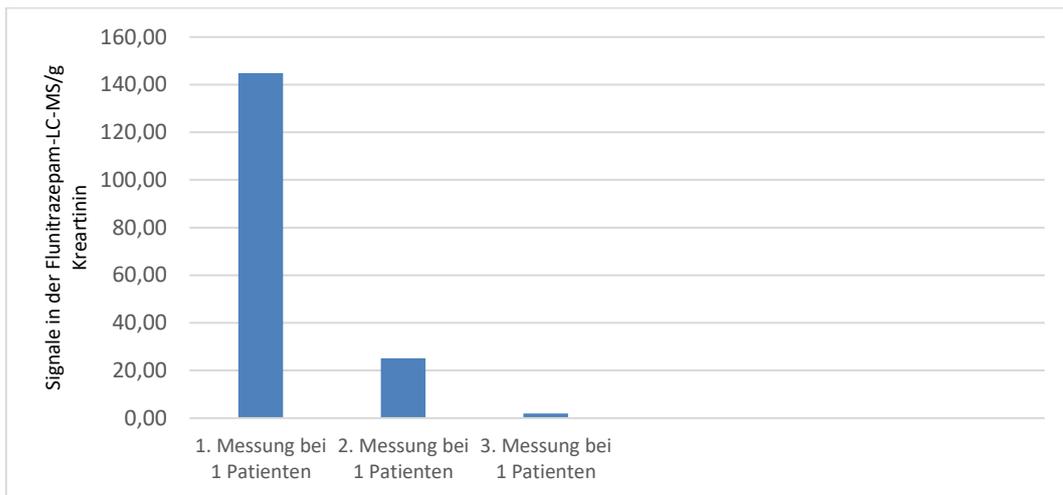


Abbildung 16. Mittelwerte der Signalstärke in der Flunitrazepam-LC-MS zu den einzelnen Untersuchungszeitpunkten (Signale auf Kreatinin normalisiert)

Zusammenfassend kann man festhalten, dass mit Ausnahme von P 15 bei allen mit dem Beginn der Oxazepamentgiftung kein Beikonsum anderer Benzodiazepine stattfand. Mit der LC-MS war dies gut zu verfolgen.

#### 4.9. Vergleich der Benzodiazepinmessung mit dem Immunoassay und der LC-MS unter Oxazepamentgiftung

##### 4.9.1. Vergleich der Mittelwerte aus beiden Methoden

Wie aus den oben gezeigten Ergebnissen zu erwarten, ließ sich der Verlauf der Benzodiazepine im Urin unter der Oxazepamentgiftung mit der LC-MS wesentlich genauer verfolgen als mit dem immunologischen Gruppentest (Abbildung 4). Das wird besonders deutlich nach dem fünften Messzeitpunkt ab dem

P 15 andere Benzodiazepine als Oxazepam eingenommen hatte (Abbildung 5).

Die Signalhöhe sowohl im Immunoassay als auch in der LC-MS-Messung variieren bis zur dritten Messung kaum. Danach kommt es bis zur fünften Messung sowohl im Immunoassay als auch in der LC-MS-Messung zu einer Abnahme, die grafisch in der LC-MS-Darstellung steiler verläuft. Während in der LC-MS die Signalhöhe bis zur sechsten Messung ihren bisherigen Tiefpunkt erreicht hat, zeigt die Grafik im Immunoassay einen leichten Anstieg. Dies geht auf P 27 zurück, da bei diesem ein fast unveränderter Signal-Wert im Immunoassay in der fünften auf die sechste Messung vorliegt bei gleichzeitiger Abnahme der Signalwerte der übrigen sechs Patienten. Zu diskutieren ist hier am ehesten eine Kreuzreaktivität mit anderen Substanzen. Die grafische „Verzerrung“ spiegelt auch den Bezug auf die vorliegende geringe Patientenzahl wider, die auf diesen sogenannten „Ausreißer“ sehr empfindlich reagiert. Während die Signalstärke im Immunoassay auf die siebte Messung fast unverändert bleibt, kommt es in der Benzodiazepin-LC-MS zu einem zehnfachen Anstieg des Signals, welche sich bis zur achten Messung nochmals verdoppelt hat. Dies ist auf die externe Zufuhr von Benzodiazepinen von P 15 zurückzuführen. In der achten Messung kommt es im Immunoassay zu einem leichten Anstieg bedingt durch die Zunahme durch die externe Zufuhr von Benzodiazepinen und des körpereigenen Abbaus zu Oxazepam. Hier zeigt sich die deutlich höhere Sensitivität der LC-MS-Messung. Der Immunoassay „hinkt“ einerseits der LC-MS-Messung hinterher, andererseits spiegelt wahrscheinlich auch die geringere Kreuzreaktivität des Oxazepams im Immunoassay, welches in der achten Messung ihren Höhepunkt erreicht hat durch den körpereigenen Abbau der eingenommenen Benzodiazepine, dieses Ergebnis wider. Bis zur neunten Messung zeigt sich in beiden Verfahren ein signifikanter Abfall.

#### **4.9.2. Vergleich der Immunoassaysignale mit der Oxazepam-LC-MS bei allen Patienten über den Beobachtungszeitraum**

Wenn man die Signale aller Messungen für jeden Patienten kumuliert darstellt und den Immunoassay (Abbildung 17), mit der Oxazepam-LC-MS vergleicht (Abbildung 18), sieht man auf den ersten Blick, dass sich das Muster markant unterscheidet und es wird deutlich, dass sich die Oxazepamkonzentration nicht zuverlässig mit dem Immunoassays erfassen lässt.

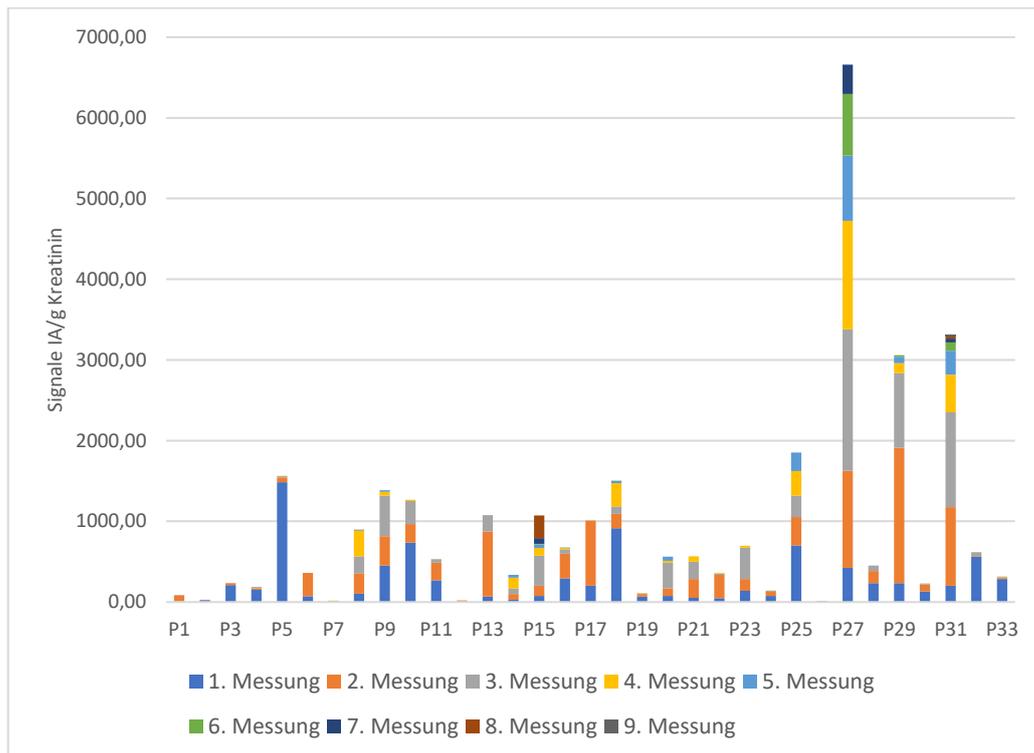


Abbildung 17: Kumulierte Signalstärken im Immunoassay je Patient über alle Messungen

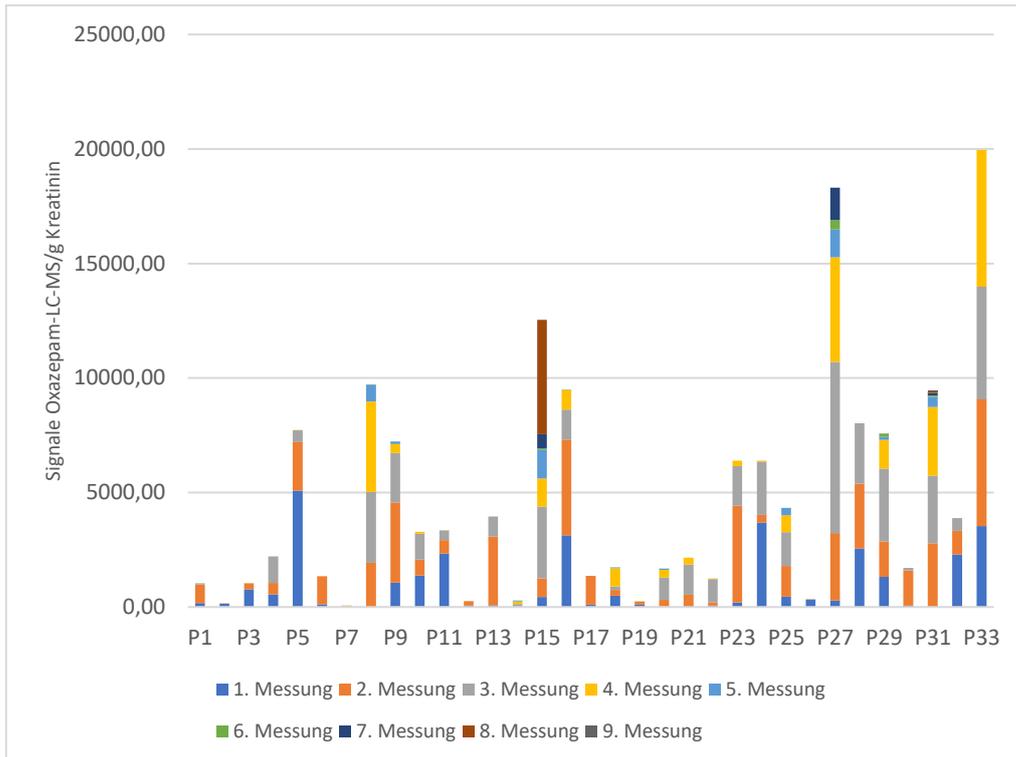


Abbildung 18: Kumulierte Signalstärken in der Oxazepam-LC-MS je Patient über alle Messungen

#### 4.9.3. Vergleich des Quotienten Gesamt-LC-MS/Immunoassay zu Quotient Oxazepam-LC-MS/Immunoassay

In einer weiteren Untersuchung wurde der Quotient der Signalhöhe Gesamt-LC-MS zu der Signalhöhe des Immunoassays zum Quotienten der Signalhöhe der Oxazepam-LC-MS und der Signalhöhe des Immunoassays verglichen (Abbildung 19). Im Idealfall wären die Quotienten innerhalb aller Messreihen der Verlaufsuntersuchungen annähernd gleich, wenn die Patienten ausschließlich Oxazepam eingenommen hätten. Dies ist aber nicht der Fall. Vor allem zu Beginn der Verlaufsbeobachtung ist der Quotient Gesamtsignal LC-MS/Immunoassay höher als der Quotient Oxazepam LC-MS/Immunoassay, was auf die Anwesenheit der anderen Benzodiazepine hinweist, die im Immunoassay kreuzreagieren. Im Verlauf gleichen sich der Faktor Gesamt-LC-MS

und Oxazepam-LC-MS zu Immunoassay an, weil allmählich die übrigen Benzodiazepine abgebaut werden und überwiegend nur noch Oxazepam im Urin nachweisbar ist.

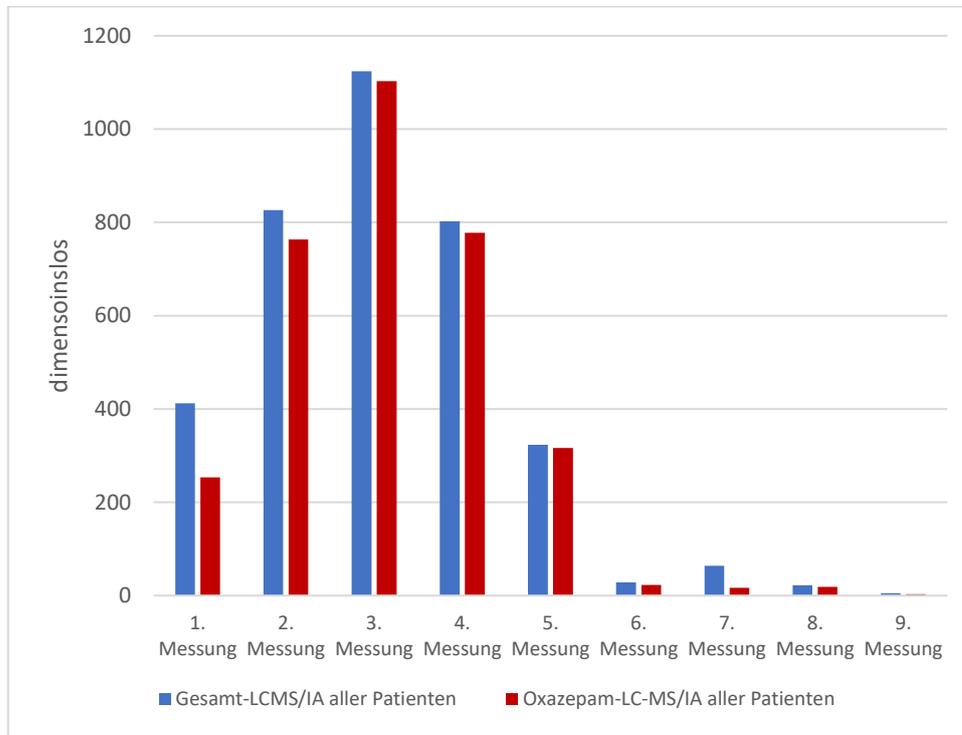


Abbildung 19: Vergleich des Quotienten Gesamt-LC-MS/Immunoassay zu Quotient Oxazepam-LC-MS/Immunoassay (Kumulierte Signale auf Kreatinin korrigiert)

#### 4.9.4. Methodenvergleich Immunoassay gegen LC-MS nach Passing & Bablok

Um zu prüfen, inwieweit ein summiertes Signal aller Benzodiazepine in der LC-MS mit dem Summensignal im immunologischen Gruppentest korreliert, wurde ein Methodenvergleich durchgeführt. In Abbildung 19 ist der Vergleich zwischen dem Immunoassaysignal und dem kumulierten LC-MS-Signal aller Messungen (n=143) in einer Regressionsanalyse nach Passing & Bablok dargestellt. Die Korrelation der beiden Methoden wurde nach Spearman ausgerechnet.

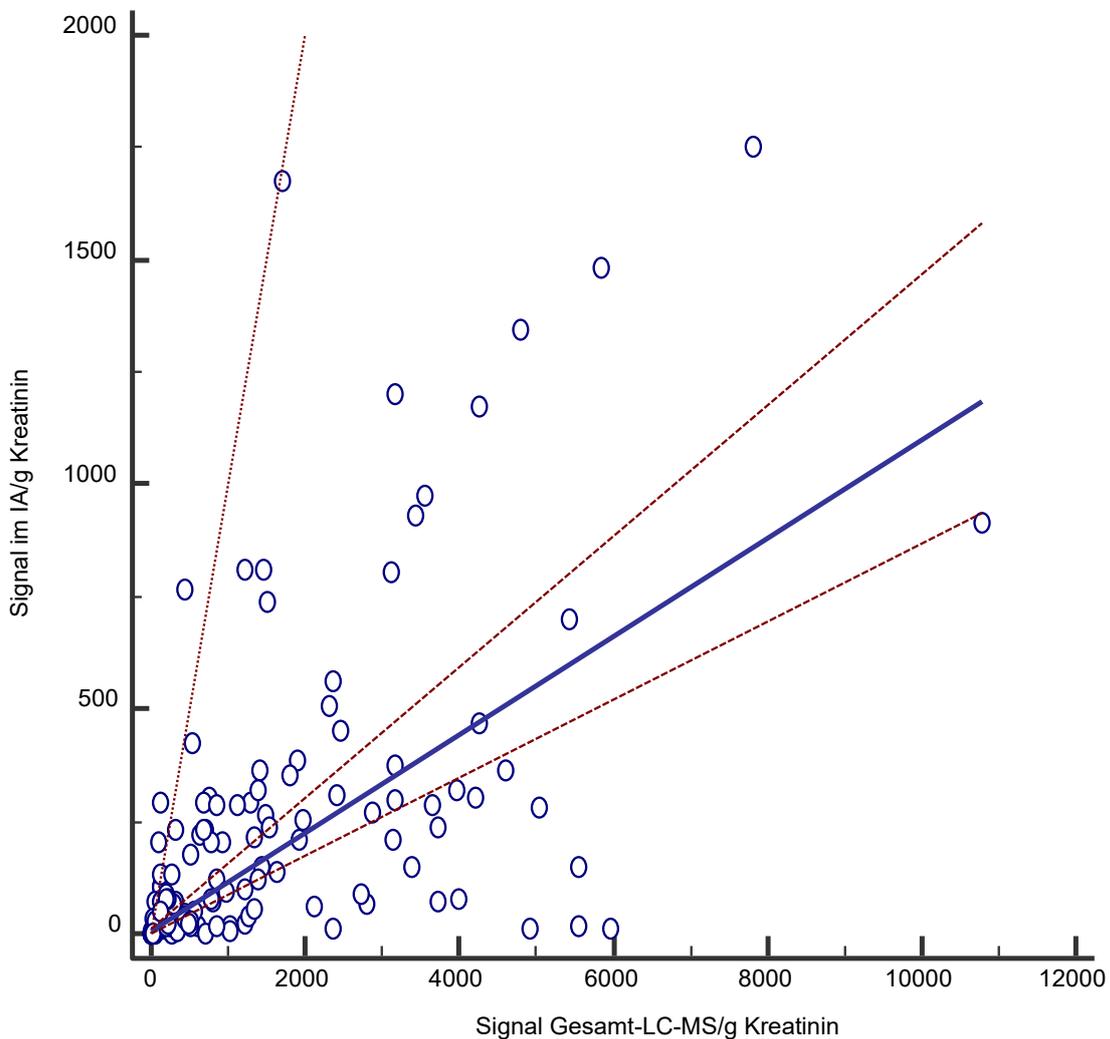


Abbildung 20: Korrelation Signal Immunoassay zu Gesamt-LC-MS-Signal.  
 $Y=3,7 + 0,11x$ ,  $r=0,7$  (Signale auf Kreatinin bezogen)

Es zeigt sich eine Korrelation von 0,70. Dies kann gemäß Nachtigall & Wirtz als moderat angesehen werden. Das Signal im Immunoassay betrug im Median nur 12% (95% CI 9,0%-17,0%) des LC-MS-Summensignals

Wenn man das Immunoassaysignal aller Messungen ( $n=143$ ) mit dem LC-MS-Signal nur für Oxazepam vergleicht (Abbildung 21), verschlechtert sich die

Korrelation (Spearman-Korrelationskoeffizient ergab einen Wert von 0,67) kaum, was auch zu erwarten war, weil die meisten Messungen unter Oxazepamintoxikation stattgefunden haben und nur wenige Patienten andere Benzodiazepine unter der Therapie eingenommen hatten sowie die ursprünglich im Eingangsurin gefundenen Benzodiazepine über den Zeitverlauf ausgeschieden wurden. Damit traten im Immunoassay nur wenige Kreuzreaktionen auf, die das Signal beeinflussten.

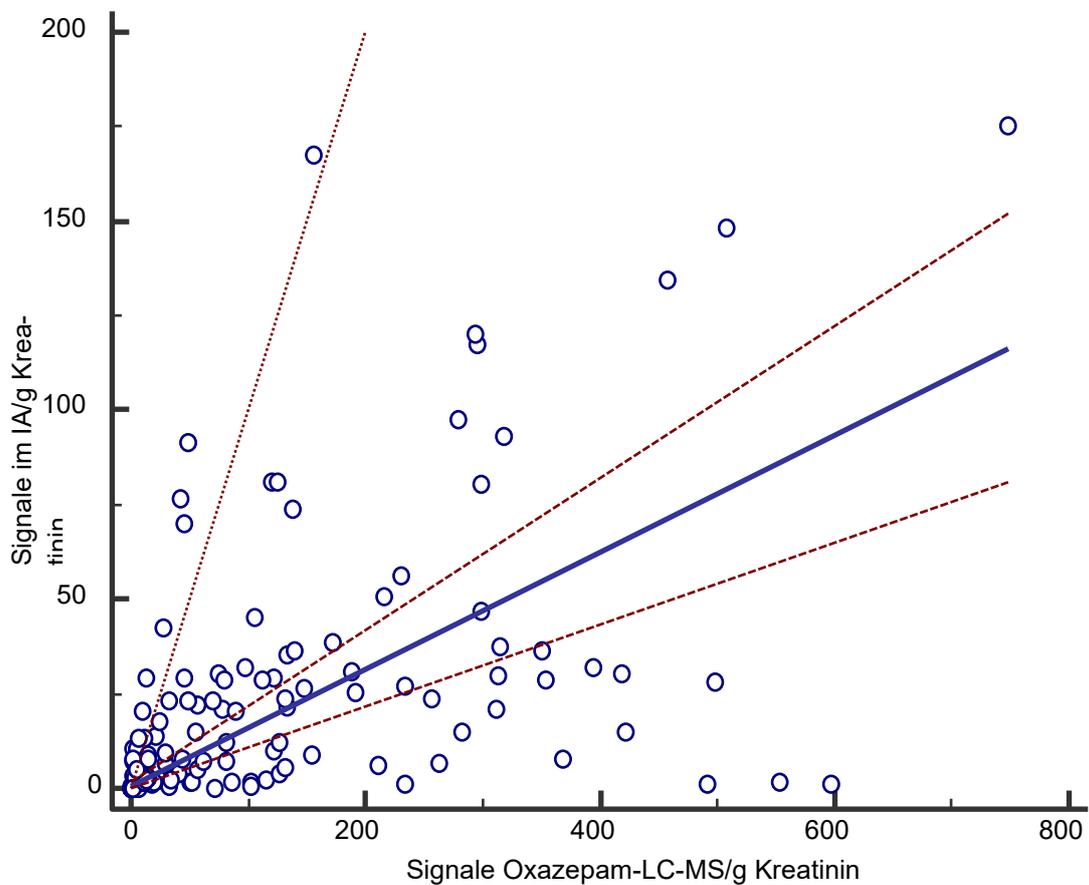


Abbildung 21: Korrelation Signal Immunoassay zu Oxazepam LC-MS-Signal.  $Y=4,4 + 0,15x$ ,  $r=0,7$ . (Signale auf Kreatinin bezogen)

#### **4.10. Vergleich Signal Immunoassay versus LC-MS für Oxazepam bei ausgewählten Individuen**

Im Folgenden werden das Signal im Immunoassay und die Messung der einzelnen Benzodiazepine mittels LC-MS bei individuellen Patienten verglichen. Es werden immer beide Methoden zuerst in einer Abbildung logarithmisch dargestellt, dann die Signale in beiden Methoden getrennt und am Ende die beiden Quotienten Gesamt-LC-MS/Immunoassay und Quotient Oxazepam-LC-MS/Immunoassay, wie oben für das Gesamtkollektiv, gegenübergestellt.

##### **4.10.1. Patient 1**

In den folgenden Abbildungen sind die Signale im Immunoassay und in der LC-MS für P 1 verglichen, bei dem ausschließlich Oxazepam im Eingangsurin vorhanden war.

In Abbildung 22 sind grafisch die Signalstärken des Immunoassays und der Oxazepam-LC-MS dargestellt. Beide Kurven verlaufen nahezu parallel, was auch zu erwarten ist, da keine kreuzreagierenden Benzodiazepine vorhanden sind, die das Signal im Immunoassay beeinflussen können. Die Signalstärken sind auf der Y-Achse, wie oben erwähnt, logarithmisch aufgetragen, um beide Kurven in einer Graphik zu präsentieren.

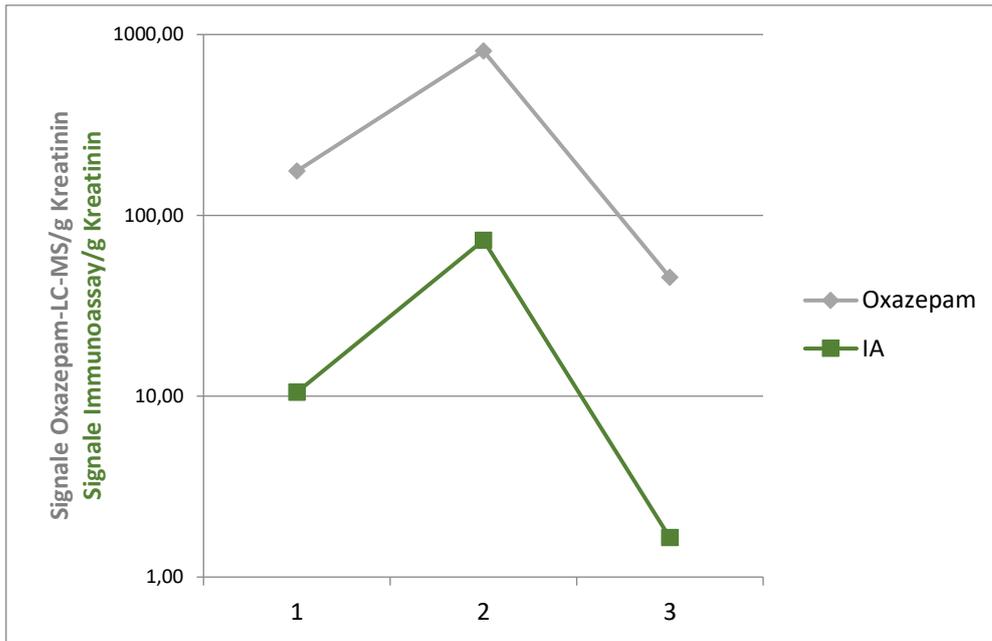


Abbildung 22: Vergleich Signale Immunoassay mit Signalen Oxazepam LC-MS bei Patient 1.

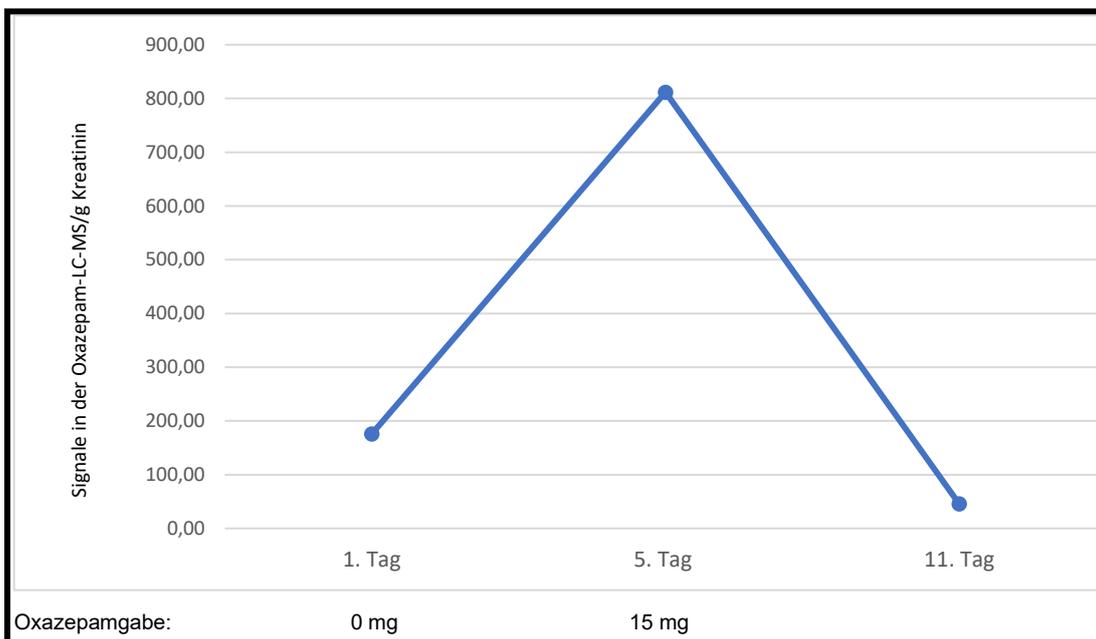


Abbildung 23: Signalstärke Oxazepam LC-MS bei P 1.

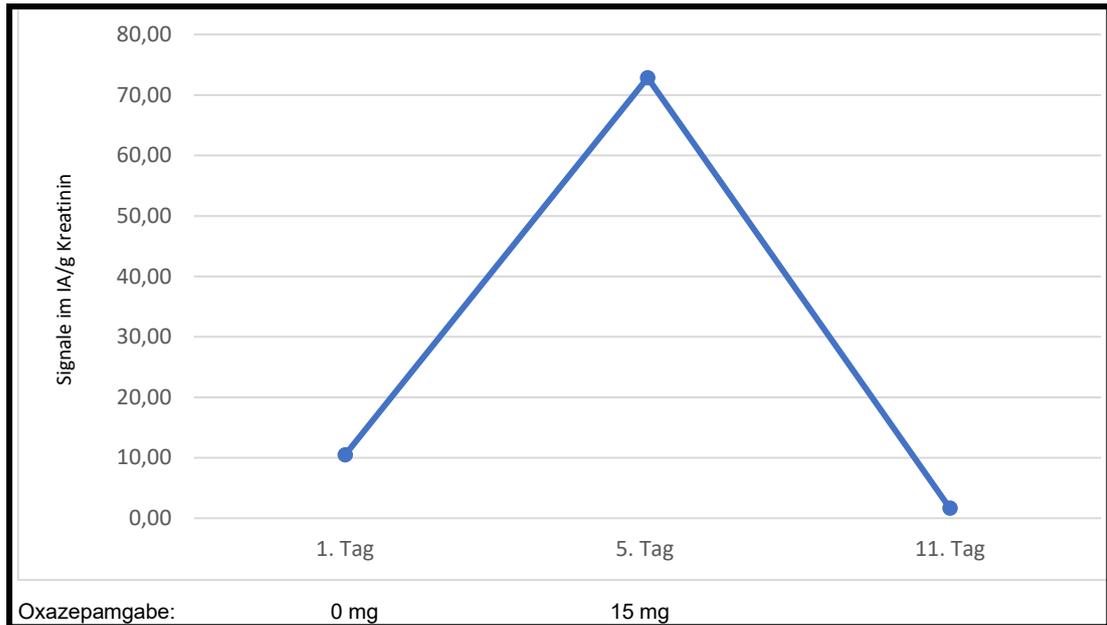


Abbildung 24: Signalstärke im Immunoassay bei P 1.

Im Rahmen der oxazepamgestützten Entgiftung zeigt sich ein ca. 10-facher Unterschied in den Signalstärken, wobei das Signal mit der LC-MS das höhere ist.

Der Quotient des Signals LC-MS/Immunoassay lag bei den drei Messzeitpunkten zwischen 17 bei der ersten Messung und 27 bei der zweiten Messung (Abbildung 25), was bestätigt, dass es keinen linearen Zusammenhang zwischen den Signalen der beiden Methoden gibt.

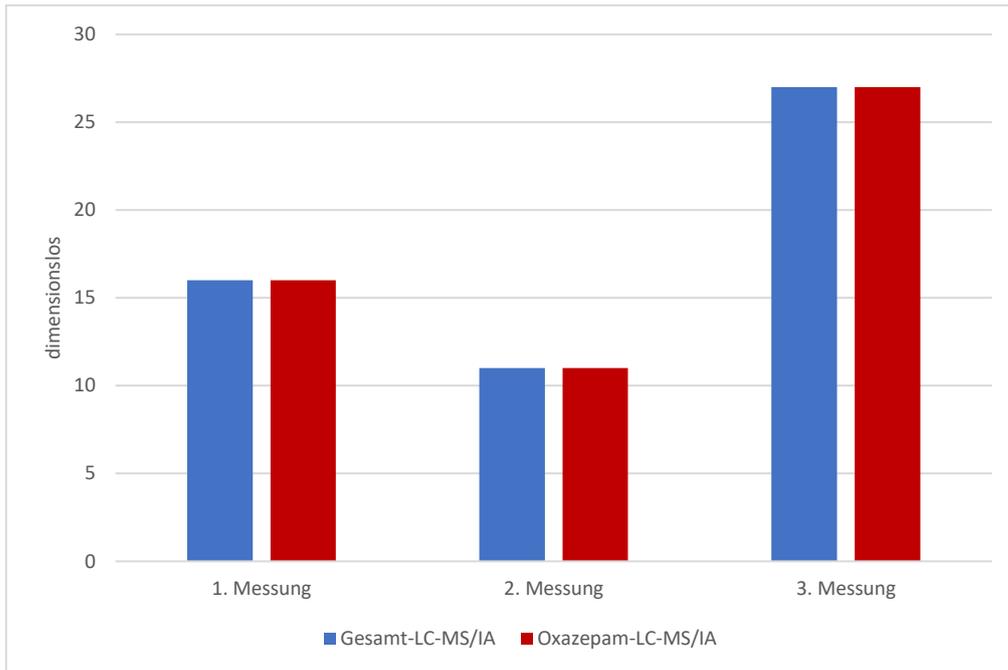


Abbildung 25: Quotient Signal LC-MS/Immunoassay bei P 1. Blauer Balken Quotient zu Gesamtbenzodiazepinen, roter Balken Quotient zu Oxazepam

#### 4.10.2. Patient 27

Im Urin von Patient 27 wurden im Eingangsscreening Diazepam, Nordiazepam, Temazepam und Oxazepam gefunden. Während das Signal im Immunoassay über den gesamten Beobachtungszeitraum hoch bleibt, kann mit der LC-MS-Methode gezeigt werden, dass Diazepam, Nordiazepam und Temazepam abgebaut werden, während logischerweise im Rahmen der oxazepamgestützten Entgiftung Oxazepam anfänglich ansteigt und dann mit der Abdosierung entsprechend abfällt (Abbildung 26). Dies zeigt die Schwächen eines immunologischen Gruppentestes, mit dem nicht entschieden werden kann, welche Benzodiazepine für das Signal im Assay verantwortlich sind. Das schnellere Abfallen von Diazepam als Nordiazepam und Temazepam ist auf den Metabolismus der Benzodiazepine und möglicherweise auf die Freisetzung lipophiler Benzodiazepine aus der Leber zurückzuführen.

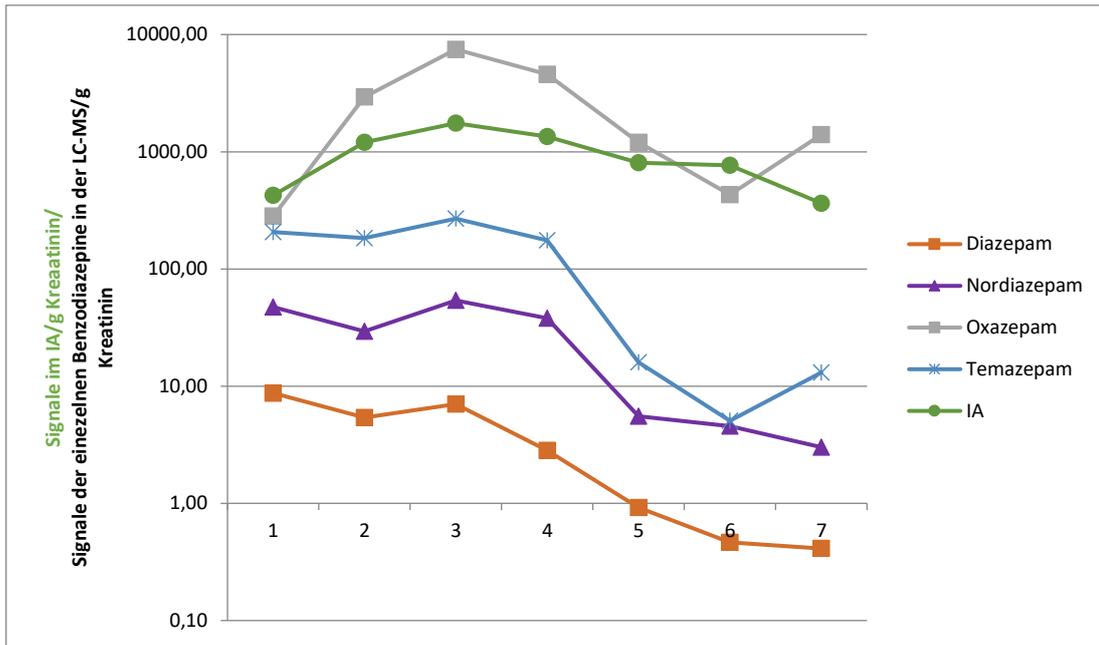


Abbildung 26: Vergleich Signale Immunoassay (IA) mit Signalen der LC-MS bei Patient 27

Durch die oxazepamgestützten Entgiftungsbehandlung und den körpereigenen Abbau der übrigen Benzodiazepine beginnt die Oxazepam-Kurve mit einer initialen Signalstärke-Wert von 282 in der LC-MS, steigt bis zur dritten Messung mit seinem höchsten Wert von 7475 steil an und fällt bis zur vorletzten Messung kontinuierlich ab. Von der sechsten bis zur letzten Messung verzeichnet Oxazepam fast eine Verdreifachung seines Wertes, nämlich von 430 auf 1400 (Abbildung 27). Dies wird im Rahmen einer physiologischen Schwankung sowohl durch die hohen Oxazepamgaben während des stationären Aufenthaltes als auch durch den Benzodiazepin-Metabolismus interpretiert.

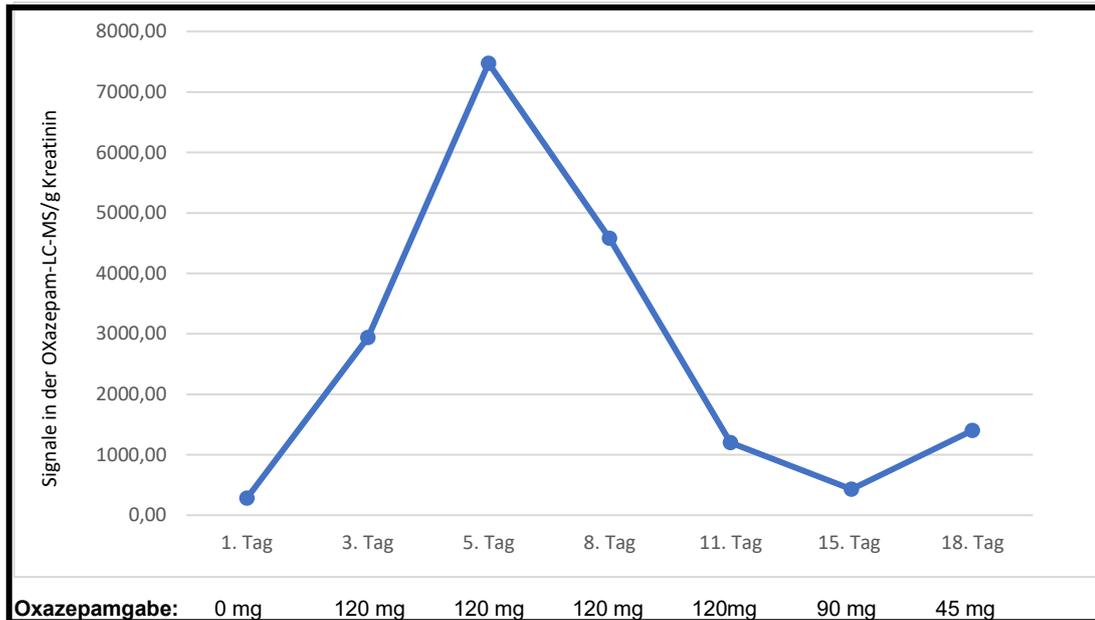


Abbildung 27: Signalstärke in der Oxazepam-LC-MS von Patient 27

Die Signalstärke der Immunoassaykurve (Abbildung 28) beginnt mit einem Wert von 425 und steigt bis zu seinem Gipfel in der dritten Messung auf einen Wert von 1752 weniger steil verglichen mit der Kurve in der Oxazepam-LC-MS (Abbildung 31). Ebenfalls weniger steil verläuft die sukzessive Abnahme der Immunoassay-Kurve bis zur fünften Messung. Zu diskutieren wäre hierfür die geringere Kreuzreaktivität von Oxazepam. Trotz Abnahme sowohl des Oxazepams als auch der übrigen Benzodiazepine kommt es kaum zu einer Signalstärke-Abnahme im Immunoassay von der fünften auf die sechste Messung. Hierfür ist wahrscheinlich eine Kreuzreaktivität mit anderen Substanzen in der Urinprobe verantwortlich. Im Gegensatz dazu kommt es zu einem Abfall der Signalstärke um fast die Hälfte von der sechsten auf die siebte Messung, während die Signalstärke in der Oxazepam-LC-MS auf das Dreifache ansteigt. Der leichte Anstieg in der Signalstärke der Temazepam-Kurve kann dies nicht erklären, da die Signalstärke insgesamt sehr niedrig ist und zudem eine Verdoppelung zu verzeichnen ist. Insgesamt lässt sich der Verlauf der Oxazepam-entgiftung mit dem Immunoassay nicht detailliert verfolgen durch das Mischsignal. Im Gegensatz zu P 1, bei dem das LC-MS-Signal ca. zehnfach höher als das Immunoassaysignal war, liegt dieses Verhältnis bei Patienten 27 bei

ca. einem Faktor zwei, da der Immunoassay ein Gruppensignal der im Urin vorhandenen Benzodiazepine darstellt.

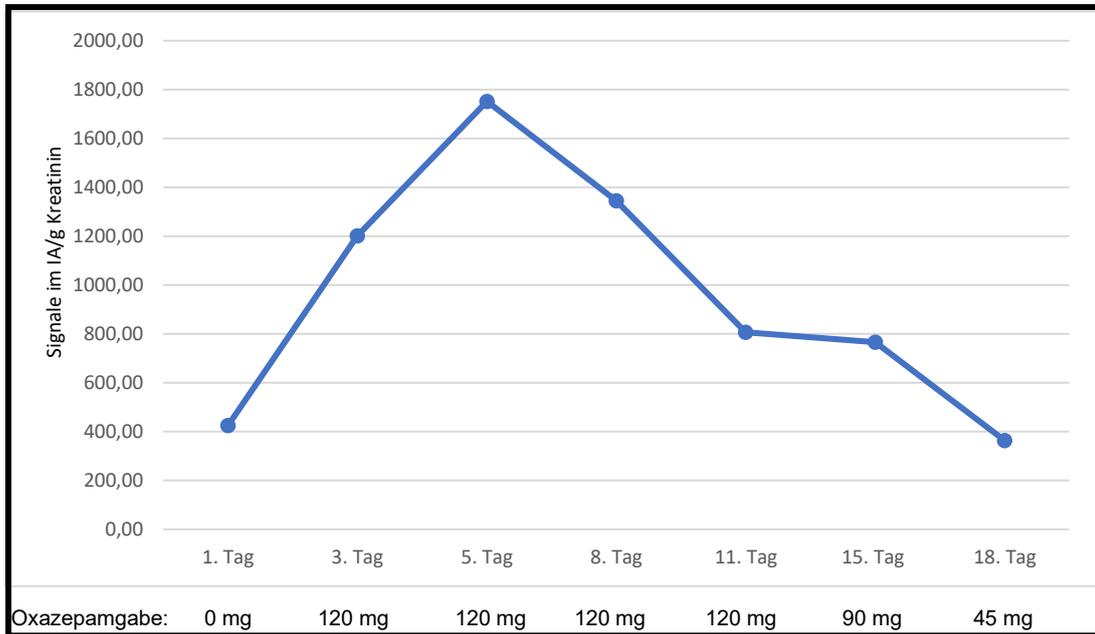


Abbildung 28: Signale im Immunoassay von Patient 27

In Abbildung 31 sind wieder die Quotienten der LC-MS-Messungen zum Immunoassay gezeigt. Der blaue Balken gibt den Quotienten der Signalstärke in der Gesamt-Benzodiazepine-LC-MS zur Signalstärke im Immunoassay wieder. Der rote Balken beschreibt den Quotienten Signalstärke in der Oxazepam-LC-MS zur Signalstärke im Immunoassay. Zu beachten sind in diesem Diagramm die geringen Schwankungen der Faktoren über alle Messreihen hinweg. Diese lagen beim Quotienten Gesamt-LC-MS zu Immunoassay zwischen 0,6 und 4,5, bzw. beim Quotienten Oxazepam-LC-MS zu Immunoassay zwischen 0,6 und 4,3. Auch stellt sich initial ein Überwiegen der übrigen Benzodiazepine gegenüber Oxazepam dar, die im Immunoassay kreuzreagieren. Im Verlauf gleichen sich die Quotienten an aufgrund des Abbaus der übrigen Benzodiazepine und dem Überwiegen von Oxazepam (Abbildung 28).

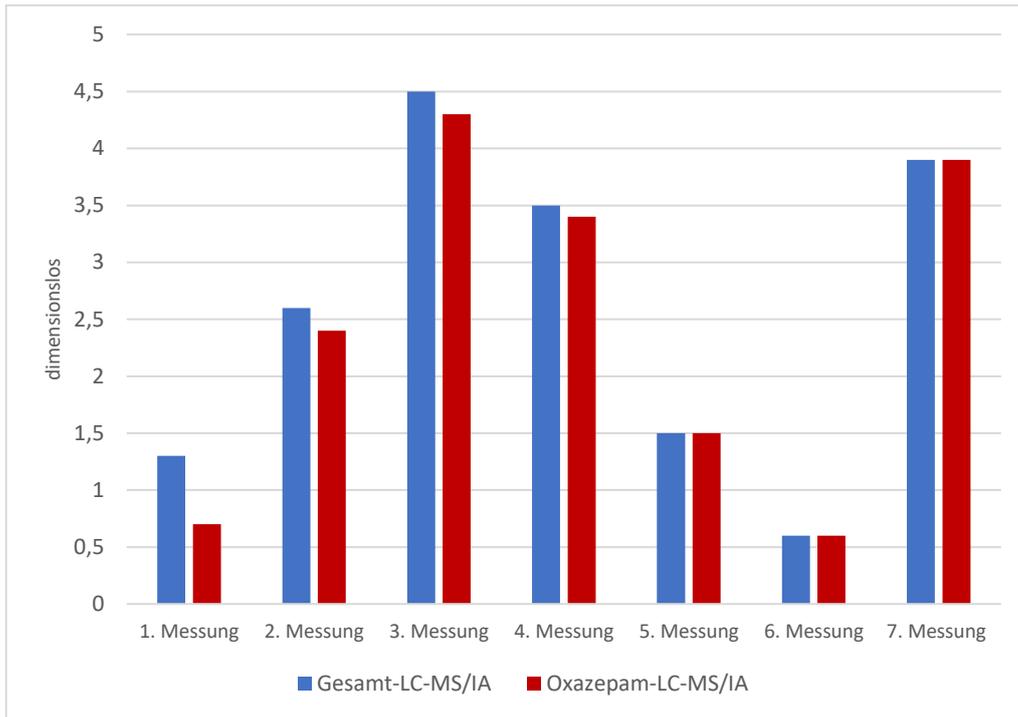


Abbildung 29: Quotient Signal LC-MS/Immunoassay bei P 27. Blauer Balken Quotient zu Gesamtbenzodiazepinen, roter Balken Quotient zu Oxazepam

#### 4.10.3. Patient 15

In Abbildung 32 ist der Verlauf der Benzodiazepinmessungen bei Patient 15 gezeigt. Bei der Untersuchung des Eingangsurins fanden sich Oxazepam, Temazepam, Nordiazepam sowie Diazepam. Auch hier lag die initiale Signalstärke im Immunoassay ca. zehnmal niedriger als die Signalstärke aller Benzodiazepine gemessen mit der LC-MS. Die Signalstärken von Nordiazepam und Diazepam konnten in der dritten Messung, die des Temazepams in der fünften Messung nicht mehr nachgewiesen werden. Bei zuvor ausschließlich Signalstärken in der Oxazepam-LC-MS zeigten sich in der siebten Messung deutliche Signalausschläge in der LC-MS auf Temazepam, Nordiazepam, Lorazepam, Diazepam und Clonazepam, was auf einen zusätzlichen externen Benzodiazepin-Konsum hinweist. Wie schon bei anderen Patienten gesehen folgt der Immunoassay gegen Ende der Therapie allmählich dem Oxazepamverlauf.

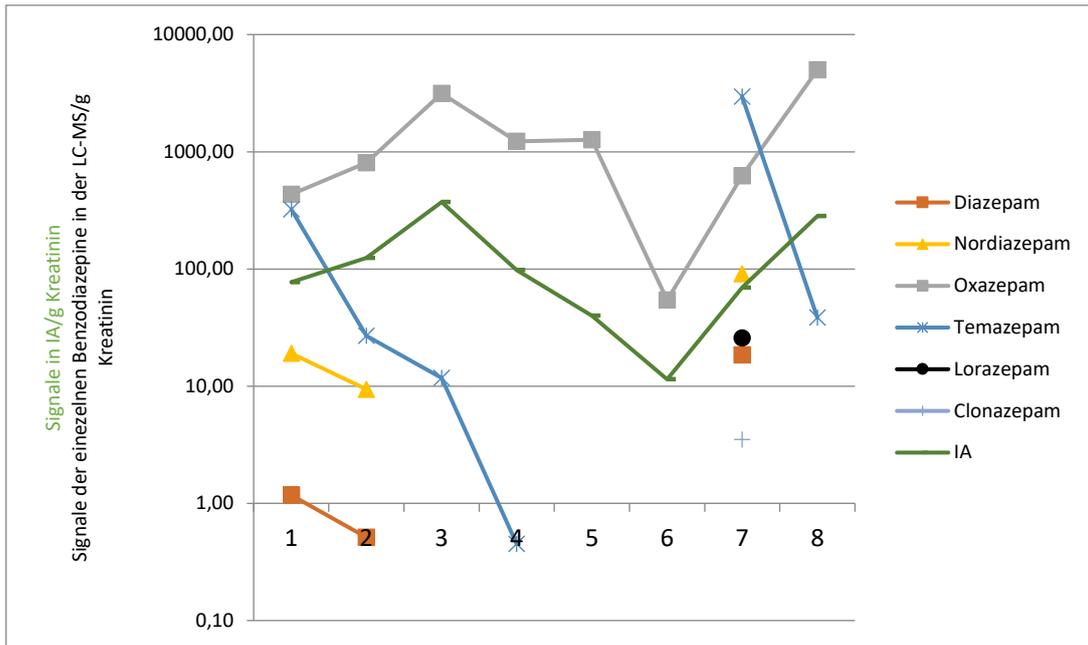


Abbildung 30: Vergleich Signale Immunoassay (IA) mit Signalen der LC-MS bei Patient 15.

Wenn man die Oxazepamsignale in der LC-MS verfolgt, steigen diese ab der zweiten Messung steil an mit einem Maximalwert in der dritten Messung (Abbildung 30). Danach findet zunächst eine Abnahme bis zur vierten Messung im Rahmen der Oxazepam-Entgiftungsbehandlung bzw. durch körpereigenen Abbau der übrigen Benzodiazepine statt. Von der vierten auf die fünfte Messung zeigen sich fast unveränderte Werte in der Signalstärke in der Oxazepam-LC-MS. Anschließend kommt es zu einem deutlichen Anstieg der Signalstärke mit einem Wert von 55. In der sechsten Messung findet sich fast ein elffach erhöhter Wert in der Oxazepam-Signalstärke ohne eine vorherige externe Oxazepamgabe, die zwei Tage zuvor beendet worden war. Durch Kenntnis der einzelnen Benzodiazepine in Abbildung 32 ist der Signalstärke-Anstieg in der Oxazepam-LC-MS am ehesten durch den körpereigenen Abbau der externen Benzodiazepin-Einnahme zwischen der sechsten und siebten Messung dies entspricht dem 16. und 20. Tag nach stationärer Aufnahme, zu erklären.

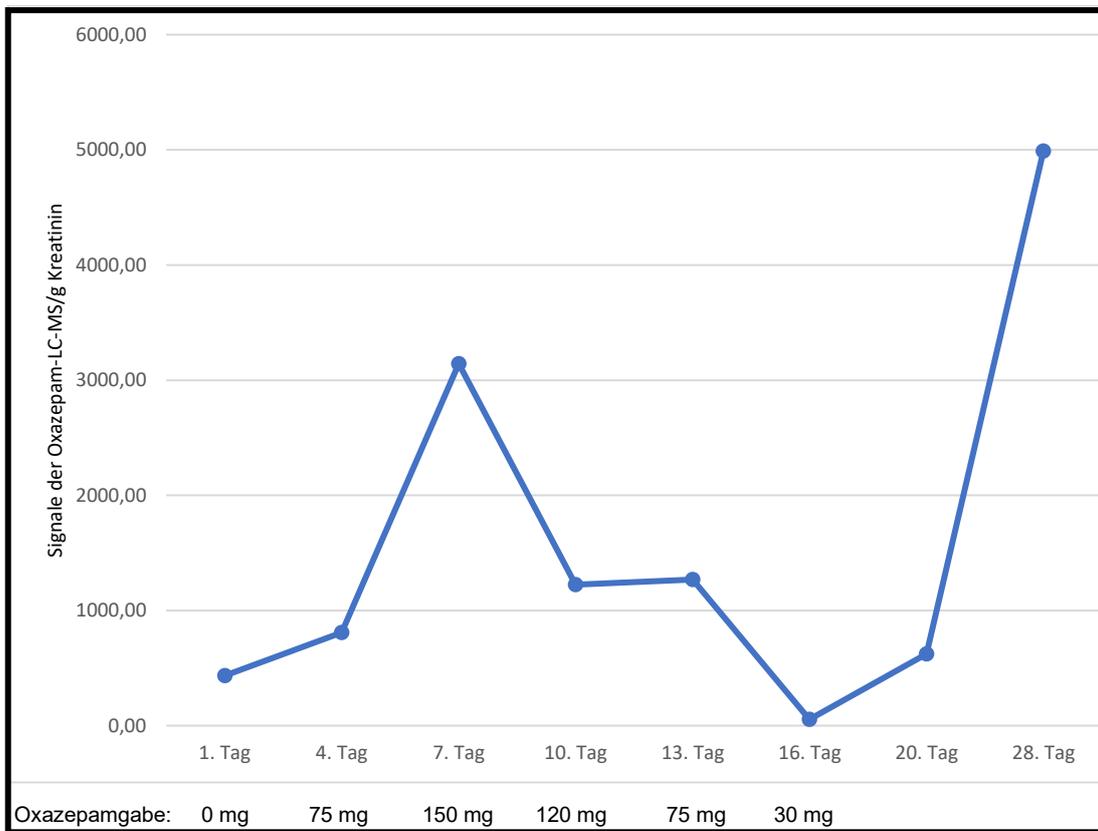


Abbildung 31: Oxazepam im Urin von Patient 15. Signale in der LC-MS

Es ergibt sich ein ähnlicher Kurvenverlauf in der Signalstärke im Immunoassay (Abbildung 32) wie in der Oxazepam-LC-MS, jedoch ist die initiale Signalstärke im Immunoassay ca. sechsmal geringer als in der LC-MS (Abbildung 31). So zeigt der Kurvenanstieg eine Verdoppelung der Signalstärke bis zur zweiten Messung und eine weitere Verdreifachung bis zu ihrem Höhepunkt in der dritten Messung. Es folgt, wie in der Oxazepam-LC-MS, ein steiler Abfall bis zur vierten Messung. Im Gegensatz zur Signalstärke in der Oxazepam-LC-MS, die auf einem Plateau verbleibt von der vierten auf die fünfte Messung, zeigt sich in der Signalstärke des Immunoassays ein weiterer Abfall, um in der sechsten Messung ihren Tiefpunkt in der Signalstärke zu erreichen. Das fehlende Plateau kann als unzureichende Spezifität/Kreuzreaktivität von Oxazepam interpretiert werden. Anschließend verlaufen die beiden Kurven im Immunoassay

und in der Oxazepam-LC-MS parallel, wobei die Kurve in der Oxazepam-LC-MS steiler verläuft als im Immunoassay, was auf die insgesamt unzureichende Erfassung aller Benzodiazepine zu erklären ist.

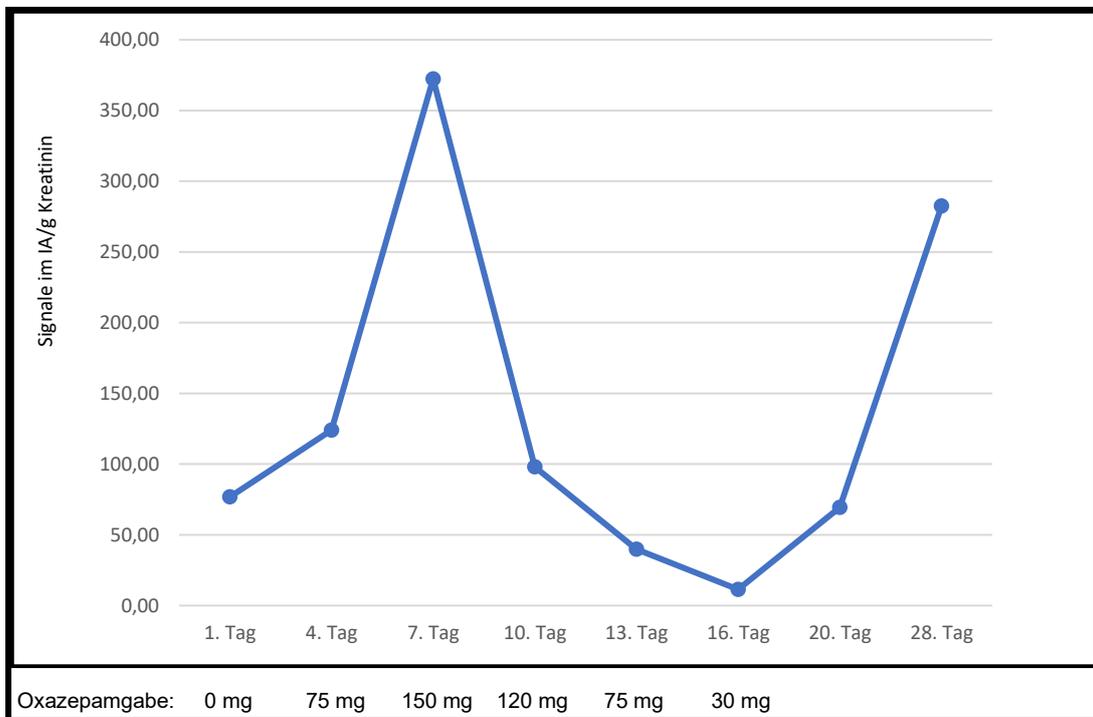


Abbildung 32: Benzodiazepine im Urin von Patient 15. Signale im Immunoassay

Wie auch bei den vorherigen Diagrammen der anderen Patienten ergibt der Quotient aus der Signalstärke der Gesamt-LC-MS und der Signalstärke des Immunoassay im Vergleich zum Quotienten aus Oxazepam-LC-MS initial einen höheren Faktor, hier zehn versus fünf, aufgrund der Misch-Benzodiazepine vor der oxazepamgestützten Entgiftung (Abbildung 33). Von der zweiten bis zur sechsten Messung finden sich gleiche Faktoren in einer Messreihe, was auf einen raschen Abbau der zuvor eingenommenen Benzodiazepine und der gleichzeitigen Einnahme von Oxazepam zurückzuführen ist. In der siebten Messung dominiert der Faktor bestehend aus dem Quotienten der Signalstärke der Gesamt-LC-MS zur Signalstärke im Immunoassay aufgrund der ex-

ternen Einnahme von anderen Benzodiazepinen, aber auch durch die erschöpfbare Konzentrationserfassung des Immunoassays, der in einer Sättigungskurve endet. In der achten Messung sind die übrigen Benzodiazepine fast vollständig zu Oxazepam abgebaut worden, so dass beide Faktoren sich fast vollständig angenähert haben.

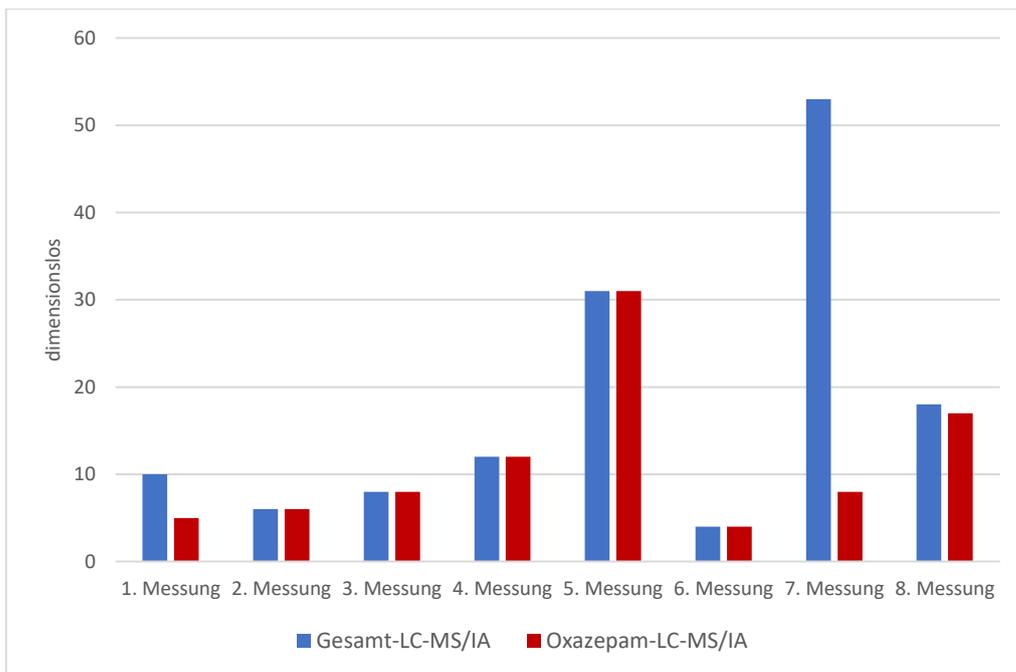


Abbildung 33: Quotient Signal LC-MS/Immunoassay bei P15. Blauer Balken Quotient zu Gesamtbenzodiazepinen, roter Balken Quotient zu Oxazepam

#### 4.10.4. Patient 31

P 31 war der einzige Patient, bei dem neunmal im Verlauf gemessen werden konnte. Die letzte Urinsammlung fand 36 Tage nach der Aufnahme statt. Zudem zeigte sich in der Laboruntersuchung eine deutlich erhöhte GGT von 1094 U/l bei bekannter Hepatitis C und zusätzlicher Alkoholabhängigkeit mit einer Ethanol-Konzentration von 0,74 g/l in der Urin-Einganguntersuchung. Im Eingangsurin waren bereits positive Werte in der LC-MS für Nordiazepam-LC-MS, Temazepam, sowie Diazepam zu verzeichnen (Abbildung 34). Die Signalstärken der Diazepam-LC-MS zeigten schwankende, jedoch insgesamt fallenden Werten bis zur achten Messung, entspricht 29. Tag post Aufnahme.

Die initiale Signalstärke in der Nordiazepam-LC-MS verdreifachte sich bis zur dritten Messung sogar, um anschließend allmählich bis zur neunten Messung allmählich abzufallen bei weiterhin vorhandenem positivem Nachweis in der LC-MS. Die Signalstärke in der Temazepam-LC-MS steigt sogar bis zur dritten Messung auf das Vierzigfache an, geht bis zur fünften Messung in ein Plateau über, um danach mit leichten Schwankungen bis zur neunten Messung deutlich abzusinken bei weiter vorhandener Nachweisbarkeit in der LC-MS.

Die prolongierten positive Nachweisbarkeiten dieser drei Benzodiazepine in der LC-MS können am ehesten im Rahmen einer deutlich eingeschränkten Leberfunktion mit konsekutivem sehr langsamem körpereigenem Abbau sowie einer Benzodiazepin-Speicherung in der Leber bei langjähriger Polytoxikomanie mit ihren somatischen Folgeerscheinungen interpretiert werden.

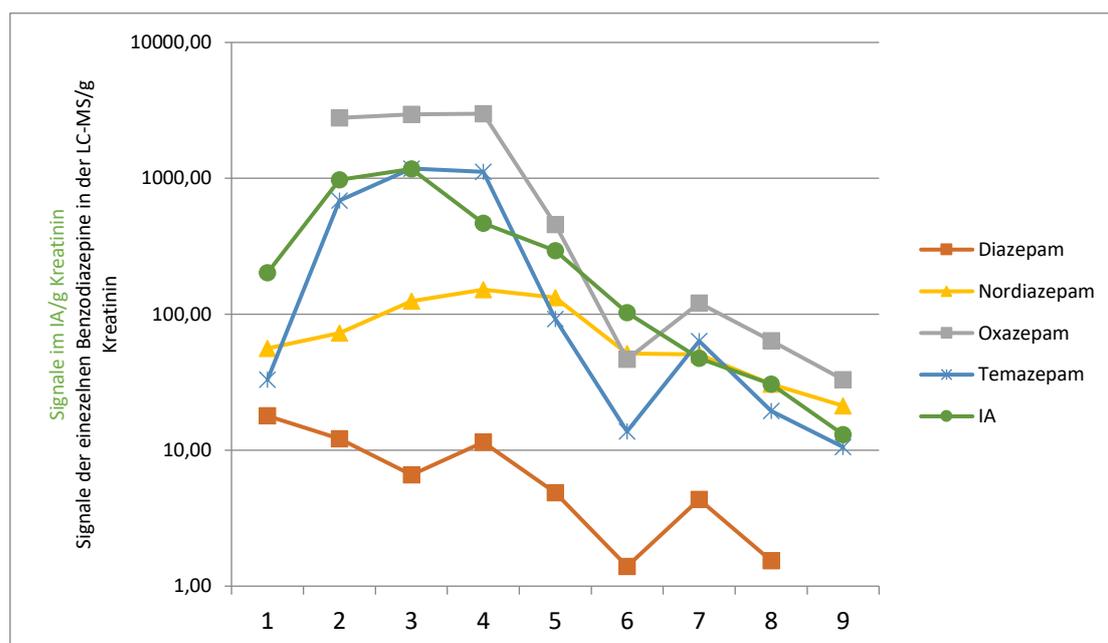


Abbildung 34: Vergleich Signale Immunoassay (IA) mit Signalen der LC-MS bei Patient 31

Oxazepam ist anfangs mit der LC-MS nicht nachweisbar, steigt bis zur zweiten Messung steil an und verbleibt auf einem Plateau bis zur dritten Messung. Anschließend kommt es bis zur sechsten zu einem steilen Kurvenabfall. Dieser

Kurvenverlauf in der Oxazepam-LC-MS entspricht überwiegend der oxazepamgestützten Entgiftung, die bis zum 15. Tag post Aufnahme abgeschlossen war. Anschließend zeigt sich ein kontinuierlicher Abfall mit leichten Schwankungen bis zu letzter Messung, welcher am ehesten auf die massive Leberfunktionsstörung mit konsekutivem sehr langsamem Metabolismus der weiterhin vorhandenen übrigen Benzodiazepine verbunden erscheint.

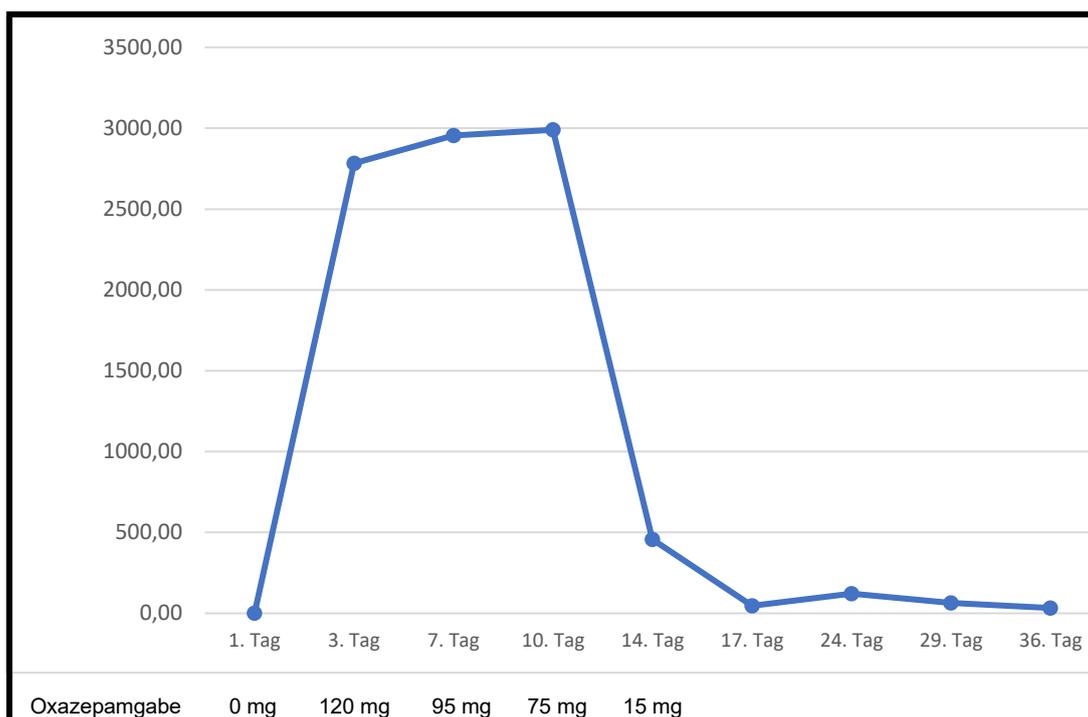


Abbildung 35: Oxazepam im Urin von Patient 31. Signale in der LC-MS.

Die initiale Signalstärke im Immunoassay steigt bis zur zweiten Messung steil an und erreicht ihren Höhepunkt in der dritten Messung (Abbildung 36). Maßgeblich daran beteiligt ist die externe Gabe von Oxazepam sowie der Metabolismus der übrigen Benzodiazepine zu Oxazepam. Danach fällt die Signalstärke bis zur sechsten Messung steil ab und zeigt bis zur neunten Messung einen tendenziellen Abfall.

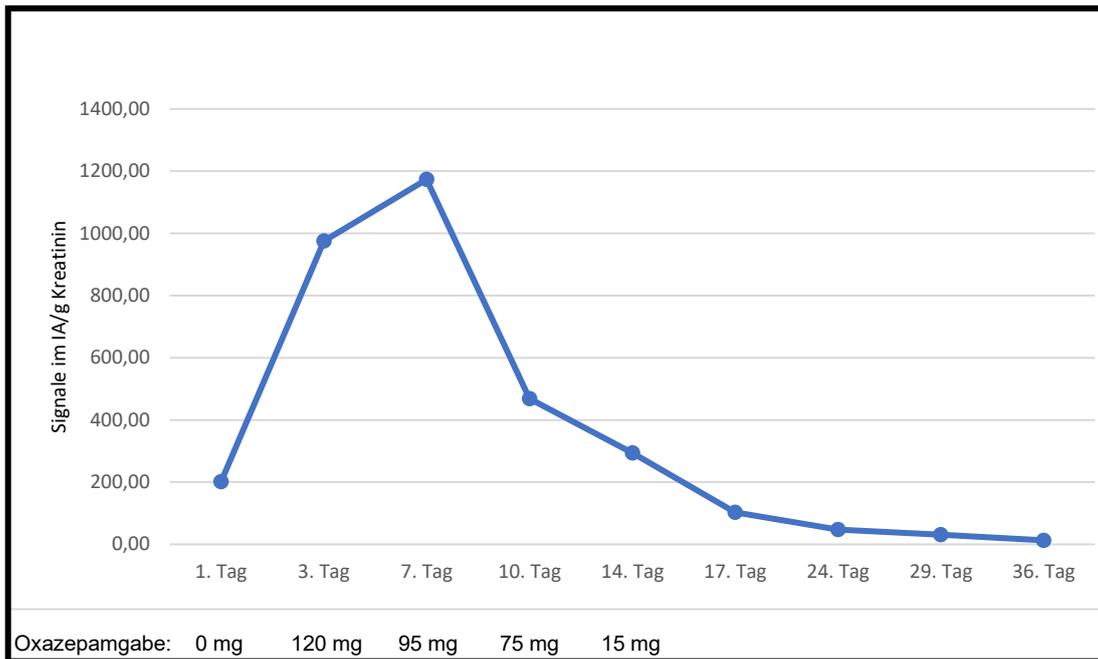


Abbildung 36: Benzodiazepine im Urin von Patient 31. Signale im Immunoassay

In dieser Darstellung ist aus dem Vergleich der Quotienten Gesamtbenzodiazepine LC-MS/Immunoassay zu Oxazepam-LC-MS/Immunoassay (Abbildung 37) ersichtlich, dass im Immunoassay über den gesamten Zeitverlauf mehrere Benzodiazepine zusätzlich zu Oxazepam reagierten. Die Quotienten der Gesamt-LC-MS zu Immunoassay als auch die Quotienten der Oxazepam-LC-MS zu Immunoassay zeigten innerhalb der Messungen mittelgradige Schwankungen, nämlich von 0,5 bis 9 bzw. von 0,5 bis 6. Die Quotienten aus Oxazepam-LC-MS zu Immunoassay zeigen durchgehend kleinere Werte im Vergleich zu den Quotienten Gesamt-LC-MS zu Immunoassay, was das Vorhandensein der anderen Benzodiazepine in jeder Messung widerspiegelt

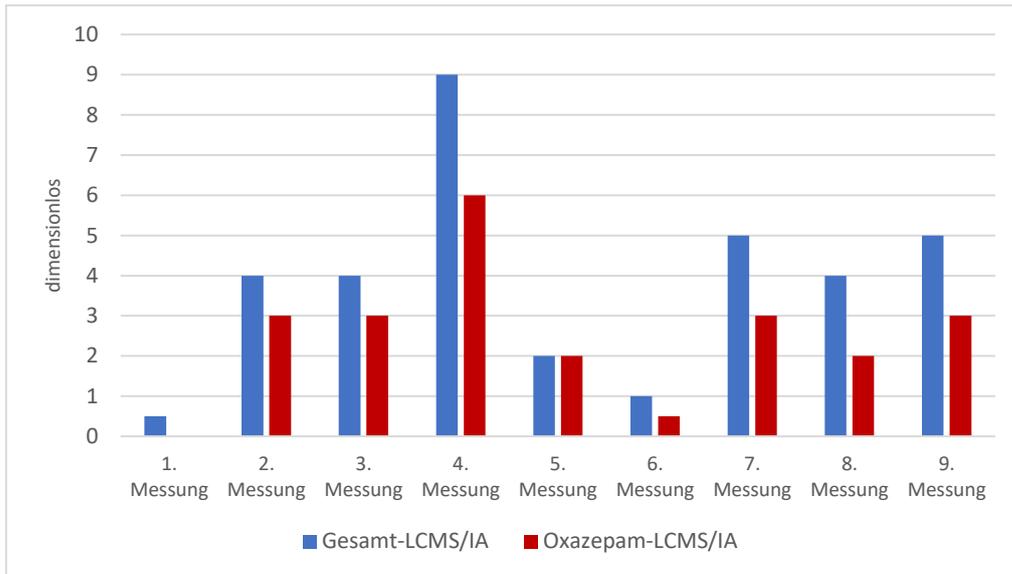


Abbildung 37. Quotient Signal LC-MS/Immunoassay bei P 31. Blauer Balken Quotient zu Gesamtbenzodiazepinen, roter Balken Quotient zu Oxazepam

## 5. Diskussion

### 5.1. Patientenkollektiv

Es wurden zwischen 2015 bis 2017 im Klinikum Stuttgart auf der Drogenentgiftungs- und Motivationsstation bei einem Patientenkollektiv von 33 Patienten 143 Urinproben zur Verlaufsbeurteilung der Compliance während der oxazepamgestützten Entgiftungsbehandlung untersucht.

Das Ausgangspatientenkollektiv bestand aus 33 Patienten im Alter von 22 bis 51 Jahren, alle mit der Diagnose einer Polytoxikomanie. Davon befanden sich 25 Patienten in ambulanter Substitution und wurden über den Substitutionsarzt stationär eingewiesen. Ein klinisch-chemisches Routine-Aufnahmelabor konnte bei 30 Patienten durchgeführt werden. Bei 18 Patienten zeigten erhöhte Leberwerte. Eine psychiatrische Komorbidität bestand bei zwölf Patienten. Davon waren fünf Patienten mit einer psychiatrischen Medikation vorbehandelt.

In den Aufnahme-Urinbefunden fanden sich bei 32 Patienten positive Werte auf Oxazepam, bei 31 Patienten positive Werte auf Temazepam, bei 29 Patienten positive Werte auf Diazepam sowie bei 24 Patienten positive Werte auf Nordiazepam. Bei sechs Patienten fanden sich Lorazepam, bei jeweils zwei Patienten Bromazepam und Alprazolam sowie bei einem Patienten Flunitrazepam.

### **5.1.2. Zusätzliche Substanzen in Eingangsdrogenurinen**

Es erfolgte hinsichtlich der einzelnen Medikamenten- und Drogensubstanzen in den Aufnahme-Urinkontrollen eine qualitative Analyse mittels LC-ITMS. 20 Patienten waren positiv auf Methadon und zehn Patienten positiv auf Buprenorphin getestet worden. Bei 22 Patienten fand sich Pregabalin und sogenanntes „Strassenheroin“ fand sich bei neun Patienten. Bei acht Patienten zeigten sich positive Befunde auf Cannabis. Bei sieben Patienten fanden sich Kokain/Amphetamine. Bei drei Patienten zeigten sich auffällige Ethanolwerte.

Der hohe Anteil der Patienten, der Pregabalin missbraucht, deckt sich mit der Literatur in der online-Meldung vom 13. September 2016 der Kassenärztlichen Vereinigung Bremen „Lyrica wird immer häufiger gedealt: Verordnungen sorgfältig abwägen“ unter [er www.kvhb.de/sites/default/files/landesrundschreiben-september-2016.pdf](http://www.kvhb.de/sites/default/files/landesrundschreiben-september-2016.pdf). Dies belegt, dass die Patienten zu Recht in das oxazepamgestützte Entgiftungsprogramm aufgenommen worden waren.

### **5.1.3. Überprüfung der Compliance während der Oxazepamentgiftung**

Um die Oxazepamentgiftung zu verfolgen, werden häufig Urinkontrollen eingesetzt. Dabei besteht der Wunsch nach (semi-)quantitativer Messwertangabe der Benzodiazepine gemessen mit dem Immunoassay beziehungsweise zumindest nach Ergänzung qualitativer Befunde durch den Hinweis, ob der aktuelle Benzodiazepinwert im Vergleich zum vorangehenden angestiegen oder abgefallen ist, insbesondere des Oxazepams (Trendbeurteilung). Dies ist bedingt möglich, in dem ein Quotient zwischen dem Signal des Immunoassays

und dem Urinkreatinin berechnet wird. Der Urin-Kreatininwert gibt als Bezugsgröße den Konzentrierungsgrad einer Urinprobe wieder. Für Messungen werden häufig immunologische Verfahren eingesetzt, deren Vorteile die schnelle Befundrückführung bei geringen Kosten sind. Für ein Drogenscreening sollten immunologische Drogentests bei einem positiven Ergebnis wegen der Möglichkeit falsch positiver Ergebnisse nach derzeitigem Stand einem Bestätigungstest mit einem chromatographischen Verfahren, unterzogen werden gemäß den Empfehlungen der Hersteller für Immunoassays.

Oxazepam wurde als Entgiftungsmedikation verwendet, da es kein eigenes Abbauprodukt hat und die Ausscheidung fast ausschließlich renal erfolgt. Zudem erfolgen Resorption, Metabolismus und Elimination durch direkte Glukuronidierung, weshalb Leberschäden keinen signifikanten Einfluss auf die Pharmakokinetik haben. Ebenfalls von Vorteil ist die relativ kurze Halbwertszeit, da die meisten Patienten durch den Substitutionsarzt zur Beikonsum-Entgiftung von Benzodiazepinen eingewiesen worden waren bzw. eine Entwöhnungstherapie anstand, musste die Entlassung benzodiazepinfrei erfolgen. Auch hier hat Oxazepam deutliche Vorteile gegenüber langwirkenden Benzodiazepinen, die zum Teil in aktive Metabolite verstoffwechselt werden. Eine ambulante Benzodiazepin-Entgiftung war aufgrund der langjährigen Polytoxikomanie bei den untersuchten Patienten nicht indiziert.

Auch in dem von mir untersuchten Kollektiv wurde ein Immunoassay für Benzodiazepine eingesetzt, der einen Gruppentest darstellte. Dieser verwendet einen spezifischen Antikörper, der die meisten Benzodiazepine und ihre Metaboliten erkennen kann. Daher ist er eher zum Screening geeignet als für einen Nachweis einzelner Substanzen. Das Hauptproblem sind unterschiedlich starke Kreuzreaktivitäten des im Test verwendeten Antikörpers zu den verschiedenen Benzodiazepinen und ein quantitatives Signal, das aber nicht als solches betrachtet werden darf. Nur mit Lormetazepam, auf das der Immunoassay kalibriert ist, lässt sich in Abwesenheit anderer kreuzreagierender Sub-

stanzen theoretisch eine quantitative Aussage treffen. Zudem weisen Immunoassays in der Regel die freien/nicht-konjugierten Formen der Benzodiazepine nach. Benzodiazepine, die unmittelbar als Glukuronid-Konjugate ausgeschieden werden, wie z.B. Alprazolam und Lorazepam werden daher oft nicht erfasst, was zu falsch negativen Ergebnissen führen kann. In der vorliegenden Studie wurden daher auch die Urinproben einer enzymatischen Hydrolyse mittels Beta-Glukuronidase vor der Analytik unterzogen, um so die Empfindlichkeit der Methode zu steigern. Dennoch kamen zwei Studien, „Limitations of EMIT Benzodiazepine Immunoassay for Monitoring Compliance of Patients With Benzodiazepine Therapy Even After Hydrolyzing Glucuronide Metabolites in Urine to Increase Cross-Reactivity: Comparison of Immunoassay Results With LC-MS/MS Value“ und „KIMS, CEDIA, and HS-CEDIA Immunoassays Are Inadequately Sensitive for Detection of Benzodiazepines in Urine from Patients Treated for Chronic Pain“ zu dem Schluss, dass es trotz vorheriger Hydrolyse von Glukuronid-Metaboliten mit Beta-Glukuronidase in den Immunoassays-Analyseverfahren zu falsch negativen Ergebnissen kam, die mittels Flüssigkeitschromatographie-Tandem-Massenspektrometrie überprüft worden waren. Dies, so schlussfolgerten die Autoren, weist daraufhin, dass trotz Hydrolyse der Proben diese Benzodiazepine dennoch oft eine geringe Kreuzreaktivität aufweisen. Ebenso falsch negative Ergebnisse bei der Benzodiazepin-Bestimmung mittels Immunoassay, die durch LC-MS erkannt wurden, finden sich in der Studie „An Evaluation of the diagnostic accuracy of liquid chromatography-tandem mass spectrometry versus immunoassay drug testing in pain patients“. Ursachen für diese falsch negativen Ergebnisse könnten in der Spezifität der Antikörper und dem Grad der Kreuzreaktivität liegen, aber auch an dem verwendeten Cut-off-Wert. Die Einstellung des Cut-off-Wertes hängt von der Fragestellung ab. Möchte man nur ganz hohe Konzentrationen von Drogen und deren Metabolite nachweisen z.B. bei der Fragestellung einer Vergiftung oder falsch positive Ergebnisse vermeiden wie zum Beispiel beim „Workplace-Testing“, dann fällt die Wahl auf einen hohen Cut-off. Soll der Nachweis sehr empfindlich erfolgen, dann wird ein niedriger Cut-off ge-

wählt mit der Konsequenz, dass es zu mehr falsch positiven Ergebnissen kommen kann (Külpmann 2004; Pfäffli et al. 2013). Weiter zur Bewertung des Drogenscreenings zu beachten sind auch unter anderem individuelle Einflussfaktoren wie Metabolisierung (Leber- und Nierenfunktion), Fettgewebe, chronische Einnahme versus sporadische Einnahme aufgeführt. Aber auch externe, wie beispielsweise bestimmte Substanzeinnahmen, und interne Manipulationen wie zum Beispiel exzessive Flüssigkeitsaufnahme können die Ergebnisse verfälschen wie in dem Artikel „Urinschnelltests (Immunoassays) auf Drogen und Medikamente“ Pfäffli et al. beschrieben. Des Weiteren ist die Metabolisierung diverser Benzodiazepine zu ihrerseits aktiven Metaboliten zu beachten. Für eine gewisse Trendbeurteilung im Sinne von steigenden oder fallenden Benzodiazepin-Konzentrationen müssen zwei Voraussetzungen erfüllt sein. Erstens kann eine ungefähre Schätzung der Benzodiazepinkonzentration durch Standardkurven mit einem Kalibrator wie oben erwähnt, ermittelt werden. Zweitens muss der jeweilige Urinkreatininwert als Bezugsgröße zur Bestimmung des Konzentrierungsgrades der Urinprobe vorliegen wie in dem Artikel „Immunochemische Tests im Urin zur Verlaufsbeurteilung von Drogenabusus“ der Autoren Degel et al. ausführlich dargestellt. Auch ist darauf hinzuweisen, dass es im Immunoassay aufgrund der limitierenden durch die markierten Antikörper gegen die Benzodiazepinbindungsstellen im Test zu einer Sättigungskurve kommt und weitere vorhandene Substanzen nicht mehr nachgewiesen werden können. Zudem finden sich in den Herstellerlisten mehrere Substanzen, die entweder ein falsch positives oder ein falsch negatives Ergebnis erbringen können. Aufgrund dieser Störanfälligkeiten des Immunoassays müssen Bestätigungstests wie in der vorliegenden Studie mit der LC-MS überprüft werden. Die LC-MS ist ein chromatographisches Verfahren, in dem Substanzen flüssigchromatografisch aufgetrennt und nach Messung ihrer Massenübergangssignale ausgewertet werden. Parallel dazu werden herstellerabhängige Positivkontrollen mit genau definierten Messbereichen verwendet. So erhält man eine qualitative Bestimmung der Benzodiazepine.

In der vorliegenden Untersuchung wurde auch die Massenspektrometrie als qualitatives Verfahren eingesetzt, da die Methode nicht auf einzelne Benzodiazepine kalibriert war. Eine gewisse semiquantitative Aussage kann man über die Fläche des Massensignals in der Massenspektrometrie erzielen, welches durch eine spezifische Software, hier TargetLynx-Software, ausgewertet wird. Dieses Verfahren ist sowohl spezifischer als auch sensitiver als der Immunoassay. So kann man hier sowohl die einzelnen Benzodiazepine aufgrund der Kenntnis ihrer spezifischen Retentionszeiten und Massen differenzieren als auch geringere Benzodiazepin-Konzentrationen erfassen. Bei einem direkten Vergleich war die Signalintensität mit diesem Verfahren stets höher als im Immunoassay.

Sowohl die Auswertungen der einzelnen Patienten als auch die über das Gesamt-Patientenkollektiv zeigen, dass bis zur dritten Messung (5. – 18. Tag post Aufnahme) die Signalstärken in der Gesamt-Benzodiazepin-LC-MS- und in der Immunoassay-Messung entweder leicht ansteigen oder sich auf einem hohen Niveau halten. Dies ist einerseits bedingt durch den Metabolismus einiger Benzodiazepine in aktive Metaboliten und andererseits durch die Zufuhr von Oxazepam als Entgiftungsmedikation. Ab der vierten Messung (8. – 18. Tag post Aufnahme) kommt es zu einem Rückgang der Signalstärken in beiden Methoden. In der Oxazepam-LC-MS-Messung kommt es insgesamt zu einem Anstieg bis zur dritten Messung durch die oxazepamgestützte Entgiftung, was sich in der Signalstärke des Immunoassays bis dahin nicht widerspiegelt aufgrund der noch vorhandenen anderen Benzodiazepine bzw. deren aktiver Metaboliten, die im Assay kreuzreagieren. Das heißt, dass eine Trendbeurteilung hinsichtlich Anstieges oder Abfall des vorangegangenen Benzodiazepinwertes mit dem Immunoassay-Verfahren bis zur dritten Messung kaum aussagekräftig ist. Diese Beobachtung deckt sich mit der Studie „Immunchemische Tests im Urin zur Verlaufsbeurteilung von Drogenabusus“, in der die Autoren Degel et al. darauf hinweisen, dass sich das Messsignal im Immunoassay aus der Summe der Einzelsignale von Muttersubstanz und ihrer Metaboliten zusammensetzt und daher eine Trendbeurteilung zu diesem Zeitpunkt nicht möglich

ist. Wie in der vorliegenden Studie gezeigt, kann eine gewisse Trendbeurteilung nur dann erfolgen, wenn die anderen Benzodiazepine langsam abgebaut werden und überwiegend Oxazepam vorliegt und zugleich sukzessive reduziert wird. Bei den meisten Teilnehmern der Studie war eine Trendbeurteilung ab der vierten Messung möglich, da die übrigen Benzodiazepine langsam abgebaut wurden und zeitgleich eine Reduktion des Oxazepams stattfand.

In einer weiteren Auswertung wurden die Quotienten der Signalhöhen der Gesamt-Benzodiazepine-LC-MS und der Signalhöhen des Immunoassays in Bezug auf den Quotienten der Signalhöhe der Gesamt-Oxazepam-LC-MS und der Signalhöhe des Immunoassays für jeden einzelnen Patienten und Verlaufskontrolle verglichen. In jeder ersten Messreihe ist der Faktor Gesamt-LC-MS zu Immunoassay immer höher als der Faktor Oxazepam-LC-MS zu Immunoassay, wenn ein Vorhandensein von anderen Benzodiazepinen vorliegt. Im Verlauf gleichen sich die Quotienten Gesamt-LC-MS und Oxazepam-LC-MS zu Immunoassay innerhalb einer Messreihe an, was darauf hindeutet, dass allmählich die übrigen Benzodiazepine abgebaut werden und nur noch Oxazepam im Urin nachweisbar ist.

## **5.2. Bedeutung der Compliancekontrolle**

Wichtig ist zu gewährleisten, dass die Patienten die ihnen verordneten Medikamente, hier Oxazepam, regulär einnehmen, um einen Missbrauch bzw. einen zusätzlichen Beikonsum zu erkennen. Ein Beikonsum findet vor allem meist dann statt, wenn das Substitut langsam ausgeschlichen wird, bzw. unter Substanzfreiheit. Die Studie der Autorin Basińska-Szafrańska „Metabolic diversity as a reason for unsuccessful detoxification from benzodiazepines: the rationale from serum BZD concentration monitoring“ kommt unter anderem zu dem Schluss, dass Rückfälle/Abbruchraten eng korrelieren mit den gegen Ende der Entgiftung bzw. vorhandenen niedrigen Konzentrationen von Benzodiazepinen im Serum. In dieser Phase kommt es aufgrund der Entzugs-

symptomen oft kombiniert mit einer Exazerbation einer vorstehenden psychiatrischer Komorbidität wie Angststörungen oder depressiven Störungen, die zu Abbruch bzw. Rückfall führen. Der Beikonsum von P 15 bestätigt diese Datenlage eines Rückfalles während der letzten Entgiftungsphase. Er konsumierte in der oxazepamfreien Phase Diazepam, Temazepam, Clonazepam und Lorazepam. Hinsichtlich einer Trendbeurteilung im Immunoassay ist die Phase der Reduktions- bzw. der substanzfreien Phase am aussagekräftigsten, da durch die Reduktion von Oxazepam und den meist vollständigen Abbau der übrigen Benzodiazepine eine (semi-)quantitative Trendbeurteilung durch den Immunoassay erfolgen kann. Dennoch sollte stets ein Bestätigungstest durch die LC-MS oder ein ähnliches Bestätigungsverfahren erfolgen.

### **5.3. Bewertung der Ergebnisse**

Anhand eines Patientenkollektiv von 33 Personen mit insgesamt 143 Urinproben wurde eine (semi-)quantitative Trendbeurteilung hinsichtlich der Verlaufskontrolle von Benzodiazepinen, insbesondere des Oxazepam als Entgiftungsmedikation, gemessen mit dem Immunoassay als Gruppentest und mit der LC-MS jeweils bezogen auf den jeweiligen Urinkreatinin-Wert untersucht. Bei jeder Messung wurde die jeweilige Signalstärke dividiert durch den jeweiligen Urin-Kreatininwert. Das Patientenkollektiv nahm im Verlauf durch Entlassungen bzw. Abbrüche der Patienten stetig ab. Die Eingangsurine wurden initial auch mit dem Toxytyper auf andere vorhandene Substanzen qualitativ untersucht. Im LC-MS-Verfahren wurden die einzelnen Benzodiazepine flüssigchromatografisch aufgetrennt und anschließend massenspektrometrisch über eine Hersteller-Software bestimmt. Über die Fläche der Massensignale der einzelnen Benzodiazepine wurde die Signalstärke als (semi-)quantitative Auswertung für einen jeden Patienten ermittelt. Gleichzeitig wurde mit dem Immunoassay-Verfahren bezogen auf den jeweiligen Urinkreatininwert ebenfalls die Signalstärke als Summe aller vorhandener Benzodiazepine ermittelt. Beide Signalstärken wurden jeweils in einem gemeinsamen Diagramm für jeden Patienten dargestellt.

Bei einem direkten Vergleich der beiden Methoden zeigte sich eine moderate Korrelation der Ergebnisse, aber die Höhe der Signale war in keiner Weise vergleichbar. Der Unterschied zwischen den Messsignalen lag im Mittel bei einer 10er Potenz.

In der Arbeit sind exemplarisch vier Patienten dargestellt, bei denen die Urinproben mit dem Immunoassay und der LC-MS-Methode parallel gemessen wurden. P 1 stellt den Idealfall dar, da er im Eingangsurin ausschließlich Oxazepam aufweist und während der Oxazepamentgiftung parallele Anstiegs- und abfallende Kurven im Immunoassay und in der LC-MS aufzeigt (Abbildungen 22 -24). Bei P 27 zeigt sich eine stagnierende Signalstärke im Immunoassay von der fünften auf die sechste Messung bei gleichzeitigem deutlichem Abfall von Temazepam, Nordiazepam und Oxazepam in der LC-MS (Abbildungen 26 – 28). Dies kann sein bedingt durch eine Kreuzreaktivität einer benzodiazepin-ähnlichen Substanz. Im Gegensatz dazu stellt sich ebenfalls bei P 27 in der sechsten Messung ein Signalabfall im Immunoassay bei gleichzeitigem plausiblen Anstieg von Oxazepam in der LC-MS während der oxazepamgestützte Entgiftungsbehandlung dar (Abbildungen 26 – 28). Der Urinkreatininwert lag zu diesem Messzeitpunkt bei 158 mg/dl, so dass ein Verdünnungsfaktor ausgeschlossen werden kann. Bei P 15 zeigen sich in der siebten Messung bei zuvor ausschließlich Signalstärken in der Oxazepam-LC-MS deutliche Signalausschläge in der LC-MS auf Temazepam, Nordiazepam, Lorazepam, Diazepam und Clonazepam, was auf einen zusätzlichen externen Benzodiazepin-Konsum hinweist (Abbildung 30-32). Die Signalstärken im Immunoassay weisen in derselben Messung einen moderaten Anstieg auf, jedoch insgesamt auf das Siebenfache des vorherigen Signals. Erst in der darauffolgenden achten Messung mit negativen Werten von Diazepam, Nordiazepam, Temazepam, Lorazepam und Clonazepam in der LC-MS mit gleichzeitigem Anstieg in der Oxazepam-LC-MS verlaufen die deutlich ansteigenden Kurven des Immunoassays und der Oxazepam-LC-MS fast parallel. Dies kann durch eine unzureichende Kreuzreaktivität vor allem von Clonazepam und Lorazepam wie in den Immunoassays beschrieben, zurückzuführen sein bei gleichzeitiger einige

Tage zurückliegende Einnahme der übrigen Benzodiazepine, so dass eine geringere Konzentration im Urin vorlag mit konsekutiver Limitation durch den Cut-off-Wert. P 31 war der einzige Patient bei dem neun Messungen über einen Zeitraum von 36 Tage möglich waren. Er zeigt bis zur dritten Messung ansteigende Signalstärken im Immunoassay mit anschließenden langsamen, teils leicht schwankenden, jedoch stetigen Abnahmen in der Signalstärke im Immunoassay sowie zeitgleich in der LC-MS (Abbildungen 34 – 36). Dieser protrahierte Benzodiazepinentgiftungsverlauf weist auf eine langjährige Polytoxikomanie mit konsekutiven somatischen Folgeerscheinungen wie deutlich erhöhten Leberwerten in der Eingangsuntersuchung als Hinweis auf eine schon eingetretene Leberfunktionsstörung bei bekannter Hepatitis C hin. Die Nierenwerte lagen im Normbereich, so dass der protrahierte Behandlungsverlauf auf die Leberfunktionsstörung zurückzuführen ist.

Über den Beobachtungszeitraum unterlagen die Signalstärken der Verläufe in der LC-MS unter Einschluss aller Benzodiazepine und im Immunoassay sowohl bei den einzelnen Patienten als auch bezogen auf das Gesamt-Kollektiv nur leichten Schwankungen bis zur dritten Messung, die bereits unter der Oxazepam Entgiftungstherapie stattfand. Durch differenzierte Analyse der einzelnen Benzodiazepine mit der LC-MS konnte gezeigt werden, dass sich im Immunoassay ein Summensignal aus dem substituierten Oxazepam und der Metabolisierung der übrigen Benzodiazepine, die im Eingangsscreening nachgewiesen worden waren, zu Oxazepam ergibt. Daher erscheint eine Trendbeurteilung im Immunoassay innerhalb dieses Beobachtungszeitraumes nicht sinnvoll. Erst danach kann eine gewisse (semi-)quantitative Trendbeurteilung im Immunoassay in den Urin-Verlaufskontrollen erfolgen, da die meisten aktiven Metaboliten ausgeschieden sind und Oxazepam mit der relativ kurzen Halbwertszeit ebenfalls sich in Abnahme befindet. Am aussagekräftigsten erscheinen Trendbeurteilungen, wenn Oxazepam über mindestens 24 Stunden nicht mehr gegeben worden ist aufgrund der relativ kurzen HWZ von vier bis 15 Stunden.

Kritisch zu diskutieren in dieser Studie ist die deutliche zeitliche Spannbreite innerhalb der einzelnen Messungen als auch die zeitliche Überlappung mit der nächsten Messreihe. So erstreckt sich beispielsweise die dritte Messung vom fünften bis 18. Tag und die vierte Messung über den achten bis 18. Tag nach Aufnahme. Aufgrund der Limitation durch die begrenzten markierten Antikörper im Immunoassay kann insgesamt eine tendenzielle Konzentrationsbestimmung bei sehr hohen Benzodiazepinen nicht erfolgen. Auch durch die herstellerabhängigen Cut-off-Werte ist eine Trendbeurteilung deutlich eingeschränkter möglich als in der LC-MS-Messung, da hier auch sehr geringe Mengen von Benzodiazepinen erfasst werden und dadurch die Konzentrationen einer Urinprobe signifikanter bestimmt werden können. Daher zeigen eine Abnahme bzw. Zunahme von Benzodiazepin-Konzentrationen weniger Unterschiede in der Signalstärke im Immunoassay als in der LC-MS. Zudem bestimmt auch die Kreuzreaktivität der einzelnen Benzodiazepine wie auch Substanzen mit ähnlicher Benzodiazepingrundstruktur die Signalstärke.

In einer weiteren Untersuchung wurde eine Korrelation zwischen dem Quotienten der Signalhöhe Gesamt-Benzodiazepine-LC-MS und der Signalhöhe des Immunoassays in Bezug auf den Quotienten der Signalhöhe der Gesamt-Oxazepam-LC-MS und der Signalhöhe des Immunoassays für jeden einzelnen Patienten und in Bezug auf das Gesamtkollektiv ermittelt. Bei fast allen Patienten ist bis zur dritten bzw. vierten Messung der Faktor Gesamt-LC-MS zu Immunoassay zu Faktor Oxazepam-LC-MS zu Immunoassay in jeder Messreihe höher, was auf die Anwesenheit der anderen Benzodiazepine hinweist. Erst im Verlauf gleichen sich die Faktoren Gesamt-LC-MS und Oxazepam-LC-MS zu Immunoassay an, was darauf hindeutet, dass allmählich die übrigen Benzodiazepine abgebaut werden und nur noch Oxazepam im Urin nachweisbar ist. Es zeigen sich innerhalb der einzelnen Messreihen eines Patienten meist erhebliche Schwankungen des Faktors Gesamt-LC-MS zu Immunoassay bzw. Oxazepam-LC-MS zu Immunoassay. Im Idealfall wären die Quotienten innerhalb aller Messreihen der Verlaufsuntersuchungen annähernd gleich, so dass auf die Signalhöhe in der LC-MS auf die Signalhöhe im

Immunoassay geschlossen werden könnte. Dies ist nicht der Fall, da auch hier eine exakte Vergleichbarkeit der beiden Verfahren aufgrund des unspezifischen Gruppentest des Immunoassay mit seiner limitierten Aussagefähigkeit sowohl in den unteren Bereichen durch den Cut-off-Wert als auch im oberen Bereich durch die Sättigung deutlich eingeschränkt ist.

Eine Korrelationsanalyse der Ergebnisse beider Methoden bei den Messverfahren erfolgte zudem gemäß mit dem „Statistik-Programm „MedCalc“, indem die Summe der Benzodiazepine im Immunoassay (bezogen auf den jeweiligen Urin-Kreatininwert) zur Summe aller Benzodiazepine (ebenfalls bezogen auf den jeweiligen Urin-Kreatininwert) in Zusammenhang gestellt wurde. Insbesondere wurde auch der Spearman-Korrelationskoeffizient als Maß für die Stärke eines Zusammenhanges zwischen zwei Größen, in diesem Fall zwischen den beiden Nachweisverfahren. Hierbei zeigte sich ein Spearman-Koeffizient von 0,7, was gemäß Nachtigall & Wirtz als moderat angesehen werden kann. Ein Spearman-Korrelation von 0,67 wurde als Signalstärke der Summe aller Benzodiazepine (bezogen auf den jeweiligen Urin-Kreatininwert) im Immunoassay zur Signalstärke der Summe aller gemessener Oxazepamwerte in der LC-MS (bezogen auf den jeweiligen Urin-Kreatininwert) ermittelt. Auch diese Berechnungen bestätigen, dass bei den untersuchten 143 Urinproben die initial vorhandenen Benzodiazepine im Verlauf abgebaut wurden und durch den Metabolismus einiger Benzodiazepine zu Oxazepam sowie durch externe Zufuhr von Oxazepam ein Überwiegen von Oxazepam vorlag.

#### Limitationen der Untersuchung:

Wie bereits oben erwähnt, fanden nicht alle Messungen nach der Eingangsunteruchung im gleichen Zeitfenster statt, was einen Einfluss auf die Signale im Immunoassay hatte, wenn Benzodiazepine konsumiert worden waren, die metabolisiert werden. Leider stand zur Zeit der Untersuchungen keine kalibrierte LC-MS-Methode selektiv für einzelne Benzodiazepine zur Verfügung, weshalb auch die LC-MS-Ergebnisse nur als semiquantitativ zu betrachten sind. Die semiquantitative Auswertung über Signale bzw. Benzodiazepinäqui-

valente im Immunoassay und über die Flächen in der LC-MS-Methode, erschwerten eine quantitative statistische Auswertung. Diese ist daher eher deskriptiv. Auch waren die Daten der Ergebnisse mit beiden Methoden nicht normal verteilt, was sich in der großen Diskrepanz zwischen den Mittelwerten und den Medianen zeigt. Ein weiterer Einflussfaktor sind die unterschiedlichen Gruppengrößen zu den jeweiligen Messzeitpunkten. Die letzten vier Messungen repräsentieren weniger als zehn Patienten, die letzte Messung nur noch einen.

## **6. Ausblick**

In Anbetracht der möglichen falsch positiven und falsch negativen Ergebnisse einer Messung der Benzodiazepine mit einem immunologischen Gruppentests im Urin zur Verlaufskontrolle einer oxazepamgestützten Entgiftungstherapie sollte auf die Verwendung eines solchen Verfahren verzichtet werden und besser gezielt der selektiven Messung einzelner Benzodiazepine mit einer chromatografischen Methode der Vorzug gegeben werden. Dabei setzt sich immer die Flüssigchromatographie mit einer massenspektrometrischen Detektion durch, die zunehmend auch Einzug in medizinische Routinelaboratorien hält und nicht mehr nur forensischen Speziallaboratorien vorbehalten ist.

Vor dem Hintergrund, dass positive Ergebnisse eines immunologischen Tests chromatografisch sowieso bestätigt werden sollten, halten sich die Kosten im Rahmen, wenn man direkt chromatographische Verfahren einsetzt und auf Immunoassays verzichtet.

## **7. Zusammenfassung**

In einem polytoxikomanen Kollektiv von 33 Patienten wurde während einer stationären oxazepamgestützten Entgiftungsbehandlung geprüft, ob sich der Therapieverlauf im Urin durch einen immunologischen Gruppentests verfolgen lässt. Dazu wurden insgesamt 143 Urinproben mit einem immunologischen Benzodiazepingruppentest (EMIT) und mit einer spezifischen, aber semiquan-

titativen LC-MS-Methode verfolgt. Die LC-MS-Methode konnte einzelne Benzodiazepine selektiv nachweisen und über die Flächen der Signale semiquantitativ ausgewertet werden. Alle Signale waren auf das Urinkreatinin bezogen, um Diureseschwankungen zu relativieren. Zudem erfolgte in der Eingangsunter-suchung ein Drogenscreening im Urin mit dem Toxyperinstrument, mit dem sich >3000 Substanzen und deren Metabolite qualitativ nachweisen lassen.

Es fand sich überwiegend in den Eingangsurinen Diazepam mit seinen aktiven Metaboliten Nordiazepam, Temazepam und Oxazepam, jedoch auch bei einer geringeren Patientenzahl Lorazepam und Clonazepam.

Es bestätigte sich die Vermutung, dass mit dem immunologischen Benzodia-zepingruppentest keine semiquantitative Verlaufsbeobachtung der Oxazepa-mentgiftung möglich war, solange andere Benzodiazepine im Urin mit der LC-MS-Methode nachweisbar waren. In der Phase, in der alle nicht therapeutisch verabreichten Benzodiazepine ausgeschieden waren, ließ sich mit dem Immu-noassay der nicht erlaubte Beigebrauch von Oxazepam und anderen Benzodi-azepinen erkennen. Die weitere Verlaufsbeobachtung war allerdings er-schwert, wenn z.B. Diazepam konsumiert wurde, welches zu Nordiazepam, Temazepam und Oxazepam verstoffwechselt wird. Ein direkter Methodenver-gleich zeigte eine schwache Korrelation zwischen dem Immunoassay und der LC-MS-Analytik bei nicht vergleichbaren Signalstärken.

Aufgrund meiner Beobachtungen kann nicht empfohlen werden, die oxa-zepamgestützte Entgiftungstherapie mit einem immunologischen Gruppentest für Benzodiazepine zu verfolgen, was aber im Moment so noch häufig prakti-ziert wird.

## 8. Literaturverzeichnis:

- Argoff, Charles E Daniel P Alford, Jeffrey Fudin, Adler, Matthew J. Bair, Richard C Dart, Roy Gandolfi, Bill H. McCarberg, Steven P. Stanos, Jeffrey A. Gudin, Rosemary C. Polomano, Lynn R. Webster: Rational Urine Drug Monitoring in Patients Receiving Opioids for Chronic Pain: Consensus Recommendations; Pain Med. 2018 Jan 1;19(1):97-117.
- Bachhuber, Marcus A., Sean Hennessy, Chinazo O. Cunningham, MD, MS, and Joanna L. Starrels: Increasing Benzodiazepine Prescriptions and Overdose Mortality in the United States, 1996–2013; Am J Public Health. 2016 April; 106(4):686-8.
- Basińska-Szafrańska, Anna. Metabolic diversity as a reason for unsuccessful detoxification from benzodiazepines: the rationale from serum BZD concentration monitoring, Eur. J Clin Pharmacol 2021 Jun; 77(6):795-808.
- Bayerische Akademie für Sucht- und Gesundheitsfragen. Substitutionsbehandlung Opiatabhängiger: Zur Problematik der zusätzlichen Einnahme von Benzodiazepinen, 4. überarbeitete Auflage. Zugriff: 02.10.2016
- Benkert/Hippius 9. Auflage, Kompendium der Psychiatrischen Pharmakotherapie, Anxiolytika Kapitel 4, Seiten: 341-378.
- Blanco, Carlos, Beth Han Christopher M Jones, Kimberly Johnson, Wilson M Compton: Prevalence and Correlates of Benzodiazepine Use, Misuse, and Use Disorders Among Adults in the United States; J Clin Psychiatry, 2018 Oct 16; 79(6):18m12174.
- Brahm, Nancy C., Lynn L. Yeager, Mark D. Fox, Kevin C. Farmer, Tony A. Palmer. Commonly prescribed medications and potential false-positive urine drug screens; Am J Health Syst Pharm 2010 Aug 15;67(16):1344-50.
- Bundesärztekammer. Leitfaden für die ärztliche Praxis, Medikamente – schädlicher Gebrauch und Abhängigkeit, herausgegeben von der Bundesärztekammer und in der Zusammenarbeit mit der Arzneimittelkommission der deutschen Ärzteschaft, 2007
- Bundesärztekammer. Richtlinie der Bundesärztekammer zur Durchführung der substitutionsgestützten Behandlung Opioidabhängiger. Mit der Veröffentli-

- chung im Bundesanzeiger am 2. Oktober 2017 in Kraft getreten  
 Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte/Substitutionsregister im  
 Bericht zum Substitutionsregister Januar 2021; Bundesopiumstelle / 84.1 /  
 26.01.2021.
- Chen Kevin W, Christine C Berger, Darlene P Forde, Christopher D'Adamo<sup>1</sup>,  
 Eric Weintraub and Devang Gandhi, Benzodiazepine Use and Misuse  
 Among Patients in a Methadone Program; BMC Psychiatry. 2011 May  
 19;11:90.
- Christo, Paul J Laxmaiah Manchikanti, Xiulu Ruan, Michael Bottros,  
 Daneshvari R Solanki, Arthur E Jordan, James Colson: Urine drug testing  
 in chronic pain; Pain Physician, 2011 Mar-Apr;14(2):123-43.
- Chua, Isaac, Athena K. Petrides, Gordon D. Schiff, Jaime Ransohoff, Michalis  
 Kantartjis, Jocelyn Streid, Christiana A. Demetriou, Stacy E. F. Melanson:  
 Provider Misinterpretation, Documentation, and Follow-Up of Definitive  
 Urine Drug Testing Results; J Gen Intern Med. 2020 Jan;35(1):283-290.
- Darragh, Alicia, Marion L. Snyder, Adam S. Ptolemy and Stacy Melanson;  
 KIMS, CEDIA, and HS-CEDIA Immunoassays Are Inadequately Sensitive  
 for Detection of Benzodiazepines in Urine from Patients Treated for Chro-  
 nic Pain; Pain Physician 2014; 17:359-36.
- Degel, Fritz, Immunchemische Tests im Urin zur Verlaufsbeurteilung von Dro-  
 genabusus, Dtsch Arztebl 2004; 101: A 1168–1170 [Heft 17].
- Dixon, R. Brent, Diana Floyd and Amitava Dasgupta; Limitations of EMIT Ben-  
 zodiazepine Immunoassay for Monitoring Compliance of Patients With  
 Benzodiazepine Therapy Even After Hydrolyzing Glukuronide Metabolites  
 in Urine to Increase Cross-Reactivity: Comparison of Immunoassay Re-  
 sults With LC-MS/MS Value; Ther Drug Monit, Volume 37, Number 1, 137-  
 9 February 2015.
- Fraser, Albert D., Meatherall, Robert: Comparative Evaluation of Five Immu-  
 noassays for the Analysis of Alprazolam and Triazolam Metabolites in  
 Urine: Effect of Lowering the Screening and GC-MS Cut-off Values; J Anal  
 Toxicol. 1996 Jul-Aug;20(4):217-23.
- Fulton Heather G, Sean P Barrett, Cindy Maclsaac and Sherry H Stewart: The

relationship between self-reported substance use and psychiatric symptoms

in low-threshold methadone maintenance treatment clients. Fulton et al. Harm Reduction Journal 2011, 8:18

Gemeinsamer Bundesausschuss. Richtlinie Methoden vertragsärztlicher Verordnung: Änderung der Anlage I Nummer 2 – Substitutionsgestützte Behandlung Opiatabhängiger. Inkrafttreten am 07.12.2018.

Glover, Sarah J., Keith R. Allen: Measurement of benzodiazepines in urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry: confirmation of samples screened by immunoassay; Ann Clin Biochem. 2010 Mar;47(Pt 2):111-7.

Griggs, Christopher, Stephen Wyatt, Meghan K Wally, Michael Runyon, Joseph R Hsu, Rachel B Seymour, Michael Beuhler, Michael J Bosse, Ryan Fogg, Michael Gibbs, Eric Haas, Steven Jarrett, Daniel Leas, Animita Saha, Sharon Schiro, Bradley Watling; PRIMUM Group. Prescribing of Opioids and Benzodiazepines Among Patients With History of Overdose; J Addict Med. 2019; 13(5): 396–402.

Jones, Jermaine D., Mogali, Shanthi, Comer, Sandra D.: Polydrug abuse: A review of opioid and benzodiazepine combination us Drug Alcohol Depend. Drug Alcohol Depend. 2012 September 1; 125(1-2): 8–18.

Krasowski, Matthew D, Anthony F Pizon, Mohamed G Siam, Spiros Giannoutsos, Sean Ekins: Using molecular similarity to highlight the challenges of routine immunoassay-based drug of abuse/toxicology screening in emergency medicine; BMC Emerg Med. 2009 Apr 28;9:5.

Külpmann, Wolf R., Klinische Chemie, Medizinische Hochschule Hannover, Germany: Drug screening: Actual status, pitfalls and suggestions for improvement; J Lab Med 2004;28(4):317–325.

Külpmann, Wolf-Rüdiger. Nachweis und Bestimmung von Drogen im Urin mittels Immunoassay. Dtsch Arztebl 1996; 93(42): A-2701 / B-2108 / C-1919

Kunstmann, W., Specka, M., Wodarz, N., Scherbaum, N.: Substitutions-Richtlinie der Bundesärztekammer: Basis für eine bessere Versorgung. Dt. Ärzteblatt, 2019; 116(18). 880–6.

Kunstmann, Wilfried; Specka, Michael; Wodarz, Norbert; Scherbaum, Norbert:  
Substitutions-Richtlinie der Bundesärztekammer: Basis für eine bessere  
Versorgung; Dtsch Arztebl 2019; 116(18)

KVB Forum 11/17, Rechtssicherheit bei Methadonsubstitution.

Ladapo, Joseph A., Marc R Laroche, Alexander Chen, Melissa M. Villalon,  
Stefanie Wassar, David YC Huang, John N. Mafi. Physician Prescribing  
of Opioids to Patients at Increased Risk of Overdose From Benzodiaze  
pine Use in the United States; JAMA Psychiatry 2018 Jun 1;75(6):623-  
630

Lader, Malcolm: Coming off tranquilizers: a Sisyphean toil; Addiction 2009 Jan  
104(1):25-6.

Lader, Malcolm, Andre Tylee, John Donoghue: Withdrawing benzodiazepines  
in primary care; CNS Drugs 2009;23(1): 19-34

Leikin, Jerrold B.: Clinical Interpretation of Drug Testing; Clinical Fokus, Pri  
mary Psychiatry. 2010;17(6):23-27.

Manchikanti, Laxmaiah, Yogesh Malla , Bradley W Wargo , Bert Fellow: Com  
parative evaluation of the accuracy of immunoassay with liquid chroma  
tography tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) of urine drug testing  
(UDT) opioids and illicit drugs in chronic pain patients; Pain Physician  
2011 Mar-April.

Manchikanti, Laxmaiah, Sairam Atluri , Andrea M. Trescot , James Giordano.  
Monitoring opioid adherence in chronic pain patients: tools, techniques,  
and utility; Pain Physician. 2008 Mar;11(2 Suppl): S155-80.

Manchikanti, Laxmaiah, Yogesh Malla, Bradley W. Wargo, Bert Fellows: Com  
parative evaluation of the accuracy of benzodiazepine testing in chronic  
pain patients utilizing immunoassay with liquid chromatography tandem  
mass spectrometry (LC/MS/MS) of urine drug testing; Pain Physician.  
2011 May-Jun;14(3): 259-70.

McKenna, Josiah, Rachel Jett, Kevin Shanks, and Nicholas E. Manicke. Toxi  
cological Drug Screening using Paper Spray High-Resolution Tandem  
Mass Spectrometry (HR-MS/MS); Journal of Analytical Toxicology,

2018;42:300–310.

- Mikel, Charles, Amadeo J Pesce, Murray Rosenthal, Cameron West. Therapeutic monitoring of benzodiazepines in the management of pain: current limitations of point of care immunoassays suggest testing by mass spectrometry to assure accuracy and improve patient safety; *Clin Chim Acta*. 2012 Aug 16;413(15-16):1199-202.
- Moeller, Karen E., Julie C. Kissack, Rabia S. Atayee, Kelly C. Lee; *Clinical Interpretation of Urine Drug Tests: What Clinicians Need to Know About Urine Drug Screens*; *Mayo Clin Proc*. 2017 May;92(5):774-796.
- O'Brien PL, Karnell LH, Gokhale M et al.: Prescribing of benzodiazepines and opioids to individuals with substance use disorders. *Drug Alcohol Depend* Vol. 178, 2017, Sep 1.: 223-230.
- Ott, M., K. Berbalk, T. Plecko, E. Wieland, M. Shipkova, 2017: Detection of drugs of abuse in urine using the Bruker Toxtyper TM: Experiences in a routine clinical laboratory setting. DOI:10.1016/J.CLINMS.2017.08.002
- Owen, T., Allen W. Burton, Cristy M. Schade and Steve Passik. *Urine Drug Testing: Current Recommendations and Best Practice* *Graves; Pain Physician* 2012. ;15(3 Suppl):ES119-33.
- Parr, Jannette M, David J. Kavanagh , Lareina Cahill, Geoffrey Mitchell , Ross McD Young: Effectiveness of current treatment approaches for benzodiazepine discontinuation: a meta-analysis; *Addiction* 2009 Jan;104(1):13-24.
- Paulozzi, Leonard J, Gail K Strickler, Peter W Kreiner, Caitlin M Koris. *Controlled Substance Prescribing Patterns--Prescription Behavior Surveillance System, Eight States, 2013*; *MMWR Surveill Summ* 2015 Oct 16; 64(9):1-14.
- Passing H, Bablok W (1983) A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in *Clinical Chemistry, Part I*. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 21:709-720.
- Pesce, Amadeo, Murray Rosenthal, Robert West, Cameron West, Bridgit Crews, Charles Mikel, Perla Almazan and Sergey Latyshev; *An Evalua*

- tion of the Diagnostic Accuracy of Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Versus Immunoassay Drug Testing in Pain Patients. *Pain Physician* 2010; 13:273-281.
- Pesce, Amadeo, Cameron West, Kathy Egan City, Jennifer Strickland: Interpretation of urine drug testing in pain patients; *Pain Med.* 2012 Jul;13(7):868-85.
- Pfäffli, Matthias, Franz Oswald, Wolfgang Weinmann; Institut für Rechtsmedizin der Universität Bern; Abteilung Forensische Toxikologie und Chemie: Urinschnelltests (Immunoassays) auf Drogen und Medikamente Wissenswertes für den Arzt. *Schweiz Med Forum* 2013;13(16):318–322.
- Qriouet, Zidane, Zineb Qmichou, Nadia Bouchoutrouch, Hassan Mahi, Yahia Cherrah and Hassan Sefrioui: Analytical Methods Used for the Detection and Quantification of Benzodiazepines; *Journal of Analytical Methods in Chemistry* Volume 2019, Article ID 2035492, 11 pages
- Raouf, Mena, Jeffrey J. Bettinger, Jeffrey Fudin: A Practical Guide to Urine Drug Monitoring; *Fed Pract.* 2018 Apr;35(4):38-44.
- Rauch, P., Zellmer A., Dankbar, N., Specht, Ch., Sperling, D.. Assayoptimierung: Störeffekte bei Immunoassays erkennen und vermeiden; *LABORWELT*, Sonderdruck aus Nr. 4 / 2005 - Vol. 6.
- Reisfield, Gary M., Bruce A. Goldberger, Roger L. Bertholf: 'False-positive' and 'false-negative' test results in clinical urine drug testing; *Bioanalysis.* 2009 Aug;1(5):937-52.
- Reisfield, Gary M., Elaine Salazar, Roger L. Bertholf: Rational use and interpretation of urine drug testing in chronic opioid therapy; *Ann Clin Lab Sci.* 2007 Autumn;37(4):301-14.
- Richtlinie der Bundesärztekammer zur Durchführung der substitutionsgestützten Behandlung Opioidabhängiger.
- Rossi, Brian, Francesca Freni, Claudia Vignali, Cristiana Stramesi, Giancarlo Collo, Claudia Carelli, Matteo Moretti, Dario Galatone, Luca Morini: Comparison of Two Immunoassay Screening Methods and a LC-MS/MS in Detecting Traditional

and Designer Benzodiazepines in Urine; *Molecules*. 2021 Dec 24;27(1):112.

#### Rote Liste

Rudd, Rose A., Puja Seth, Felicita David, Lawrence Scholl: Increases in Drug and Opioid-Involved Overdose Deaths - United States, 2010-2015; *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2016;65(5051):1445.

S3-Leitlinie Medikamentenbezogene Störungen.

Saitman, Alec, Hyung-Doo Park, Robert L. Fitzgerald. False-Positive Interferences of Common Urine Drug Screen Immunoassays: A Review; *Journal of Analytical Toxicology*, Volume 38, Issue 7, September 2014, Pages 387–396.

Scholer, André: Nicht-instrumentelle Immunoassays in der Suchtmittelanalytik *Drogenanalytik*. T + K 66 (1): 27.

Schütz, Harald, Alexandre Paine, Freidoon Erdmann, Günter Weiler and Marcel A. Verhoff Institute of Legal Medicine, University of Giessen, German. Immunoassays for Drug Screening in Urine, Chances, Challenges, and Pitfalls; *Forensic Sci Med Pathol*. 2006 Jun;2(2):75-83.

Schütz, Harald, Freidoon Erdmann, Marcel A. Verhoff, Günter Weiler Institute of Legal Medicine, University Giessen, Frankfurter Str. 58, D-35392 Giessen, German: Pitfalls of toxicological analysis; *Leg Med (Tokyo)*. 2003 Mar;5 Suppl 1:S6-S19.

Schweizerische Gesellschaft für Suchtmedizin, Neurowissenschaften und Sucht, erschienen November 2009.

Soyka, M., Missbrauch und Abhängigkeit von Benzodiazepinen und Z-Drugs, *Nervenheilkunde* 2021; 40: 636–646.

Stein, Michael D., Mitika Kanabar, Bradley J. Anderson, Anna Lembke, and Genie L. Bailey. Reasons for Benzodiazepine Use Among Persons Seeking Opioid Detoxification; *J Subst Abuse Treat*. 2016 Sep; 68: 57–61.

Strathmann, Frederick G., Andrew N. Hoofnagle: Current and Future Applications of Mass Spectrometry to the Clinical Laboratory; *Am J Clin Pathol*. 2011 Oct;136(4):609-16.

- Stuppaeck CH, Barnas C, et al. Assessment of the alcohol withdrawal syndrome - validity and reliability of the translated and modified Clinical Institute Withdrawal Assessment for Alcohol scale (CIWA-A). *Addiction*. 1994; 89:1287-1292.
- Tenore, Peter L.: Advanced urine toxicology testing; *J Addict Dis*. 2010 Oct;29(4):436-48.
- Trafkowski, Jens 2008: Anwendungen der HPLC-Triple Quadrupol Massenspektrometrie in der forensischen und klinischen Toxikologie bei der Analytik von Opioiden
- Vogel, Marc, Knopfli bauen, Otto Schmid, Mari Prica, Johannes Strasser, Louis Prieto, Gerhard A. Wiesbeck, Kenneth M Dürsteler-Macfarland: Treatment or "high": benzodiazepine use in patients on injectable heroin or oral opioids; *Addict Behav*. 2013 Oct;38(10):2477-84.
- Ward, Michael B., Sarah A. Hackenmueller and Frederick G. Strathmann. Pathology Consultation on Urine Compliance Testing and Drug Abuse Screening; *Am J Clin Pathol* November 2014;142:586-593.
- Wasan, Ajay D., Stephen F. Butler, Simon H. Budman, Christine Benoit, Kathrine Fernández, Robert N. Jamison: Psychiatric history and psychologic adjustment as risk factors for aberrant drug-related behavior among patients with chronic pain; *Clin J Pain*. 2007 May;23(4):307-15.
- Wirzbicki, Sabrina: Abhängigkeitspotential von Benzodiazepinen, 2016
- Wittchen, Hans-Ulrich, Gerhard Bühringer, Jürgen Rehm: Predictors, Moderators and Outcome of Substitution Treatments = PREMOS-Studie 2011. Zugriff 15.03.2018
- Wu, Alan Hb., Roy Gerona, Patil Armenian, Deborah French, Matthew Petrie, Kara L. Lynch: Role of liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry (LC-HR/MS) in clinical toxicology; *Clin Toxicol (Phila)*. 2012 Sep;50(8):733-42.

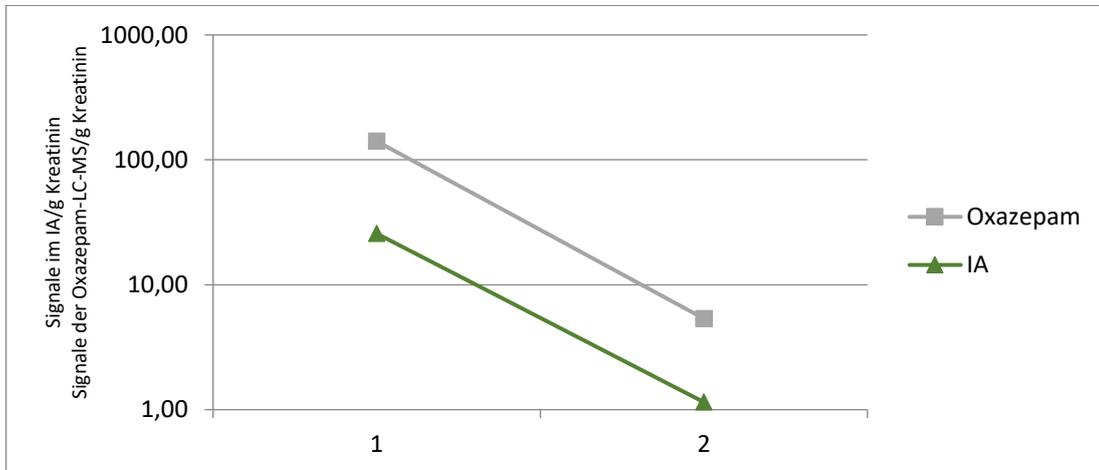
Yamamoto T. & P. I. Dargan & A. Dines & C. Yates & F. Heyerdahl & K. E. Hovda & I. Giraudon & R. Sedefov & D. M. Wood: Concurrent Use of Benzodiazepine by Heroin Users—What Are the Prevalence and the Risks Associated with This Pattern of Use? *Journal of Medical Toxicology* (2019) 15:4–11

### **Internetseiten:**

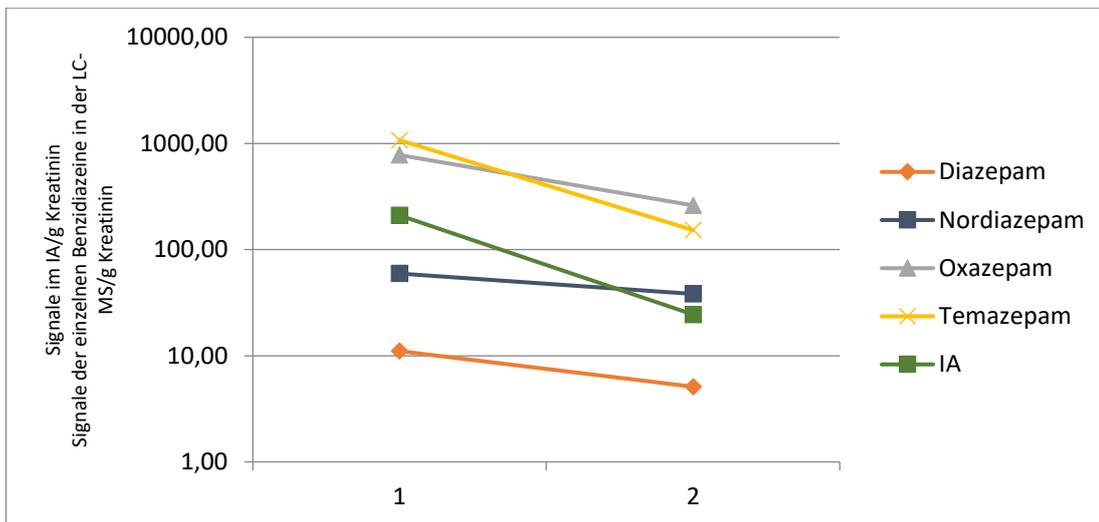
- [https://www.bundesaerztekammer.de/fileadmin/user\\_upload/\\_old-les/downloads/LeitfadenMedAbhaengigkeit.pdf](https://www.bundesaerztekammer.de/fileadmin/user_upload/_old-les/downloads/LeitfadenMedAbhaengigkeit.pdf) [letzter Zugriff 13.06.2023]
- <https://www.deutsche-apotheker-zeitung.de/news/artikel/2018/08/28/55-jahre-valium> [letzter Zugriff 13.07.2022]
- <https://www.drugcom.de/drogenlexikon/buchstabe-b/benzodiazepine> [letzter Zugriff 19.11.2022]
- <https://www.pharmazeutische-zeitung.de/vom-wundermittel-zur-risikomedikation> [letzter Zugriff 02.09.2022]
- <https://ssam.ch> [letzter Zugriff 06.01.2022]  
<https://de.wikipedia.org/wiki/Benzodiazepine> [letzter Zugriff 10.11.2022]  
<https://de.wikipedia.org/wiki/GABA-Rezeptor> [letzter Zugriff 15.03.2023]  
<https://de.wikipedia.org/wiki/Kreuzreaktivit%C3%A4t> [letzter Zugriff 30.11.2022]  
<https://www.kvhb.de/sites/default/files/landesrundsreiben-september-2016.pdf> [letzter Zugriff 04.12.2022]

## 9. Anhang des untersuchten Patientenkollektives:

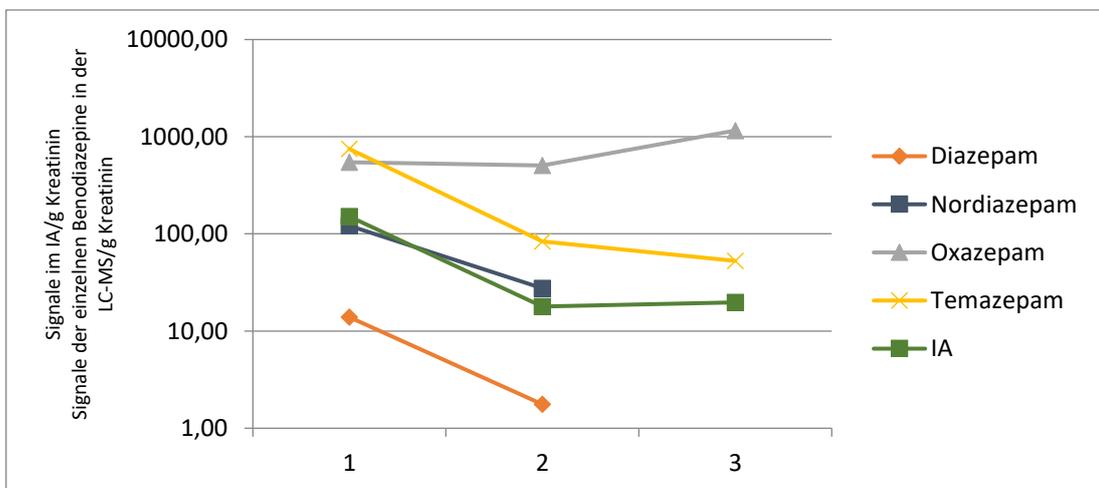
### P2:



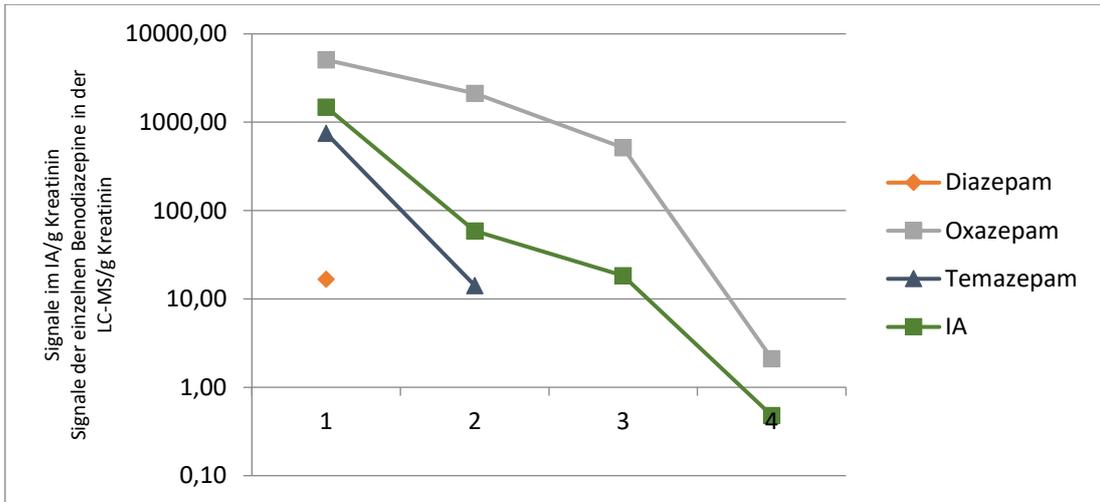
### P3:



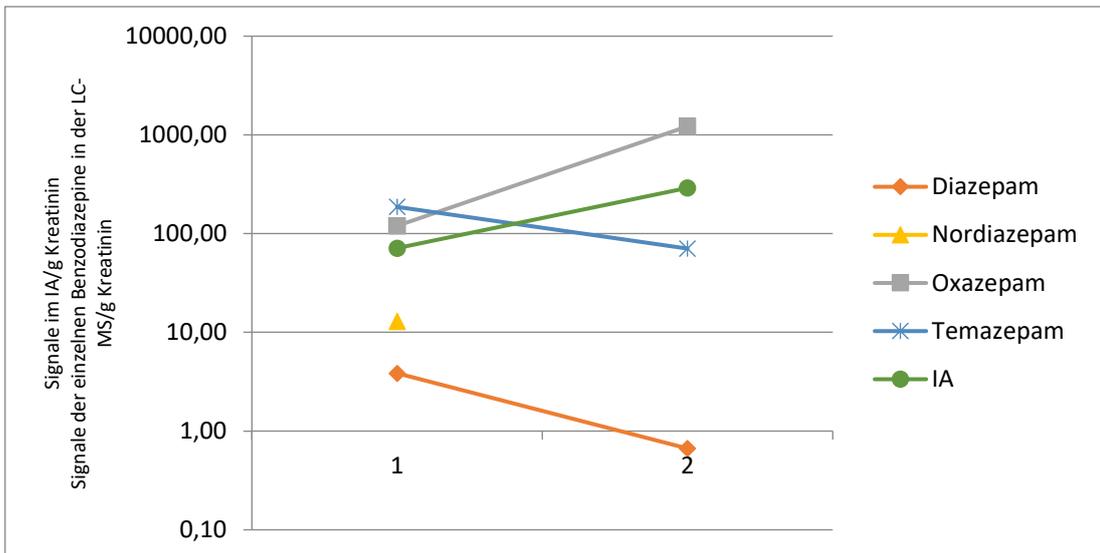
### P4:



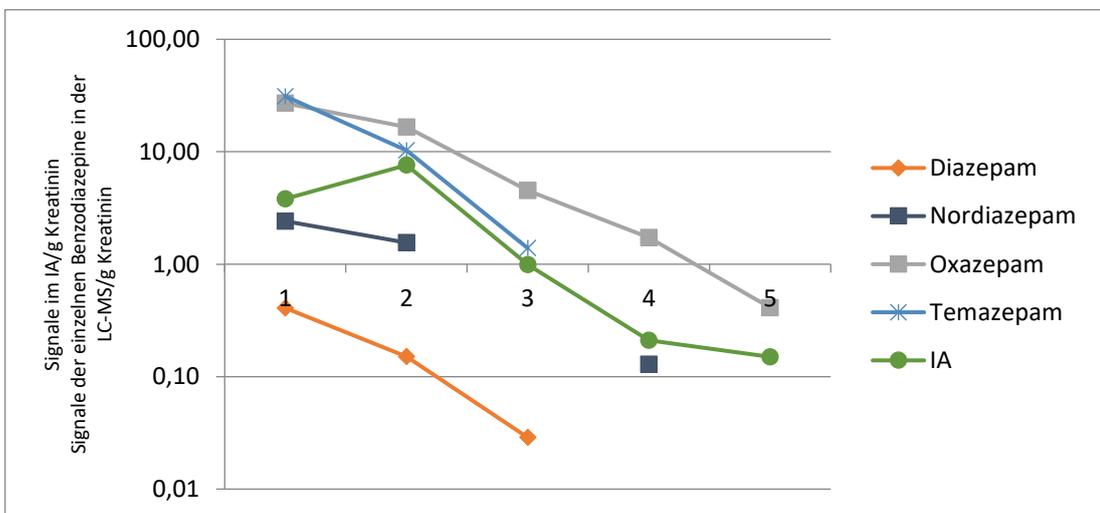
**P5:**



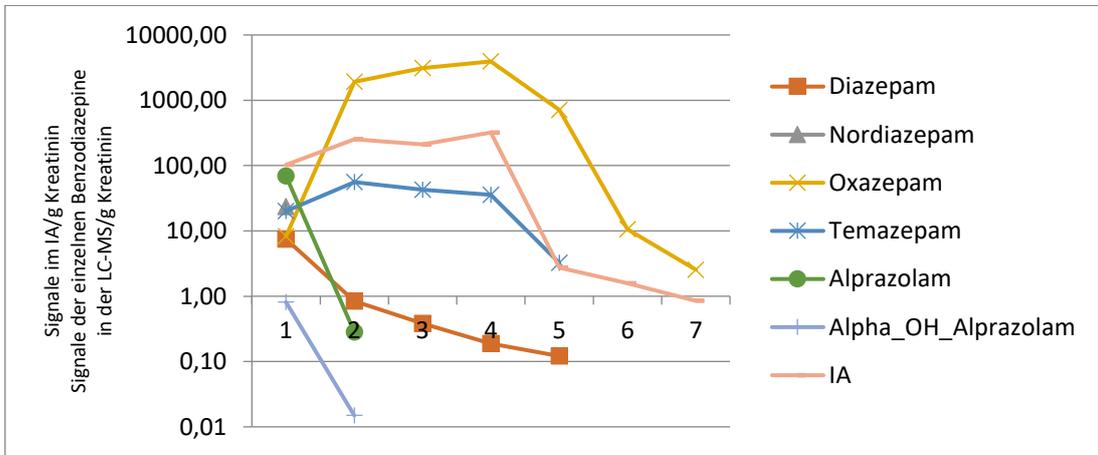
**P6:**



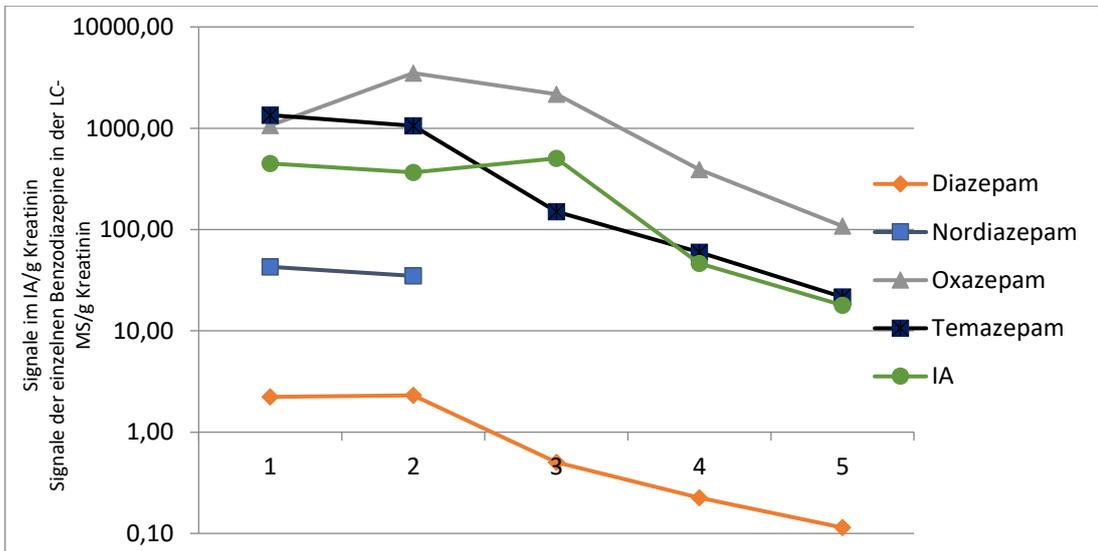
**P7:**



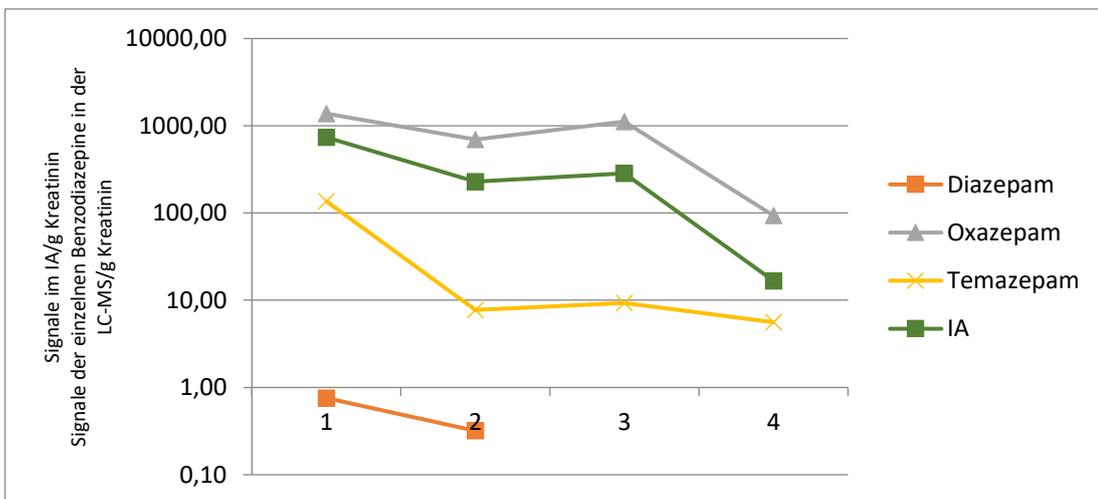
**P8:**



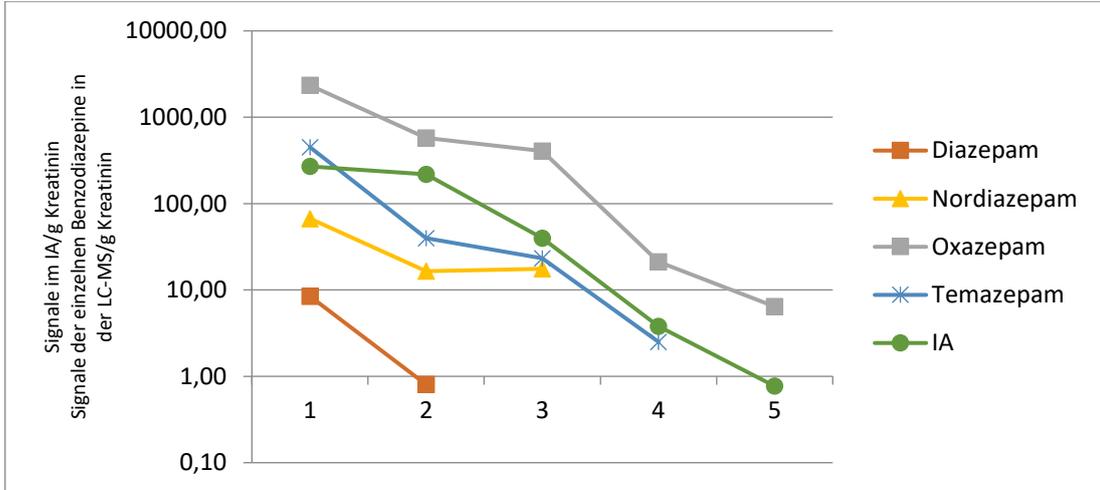
**P9:**



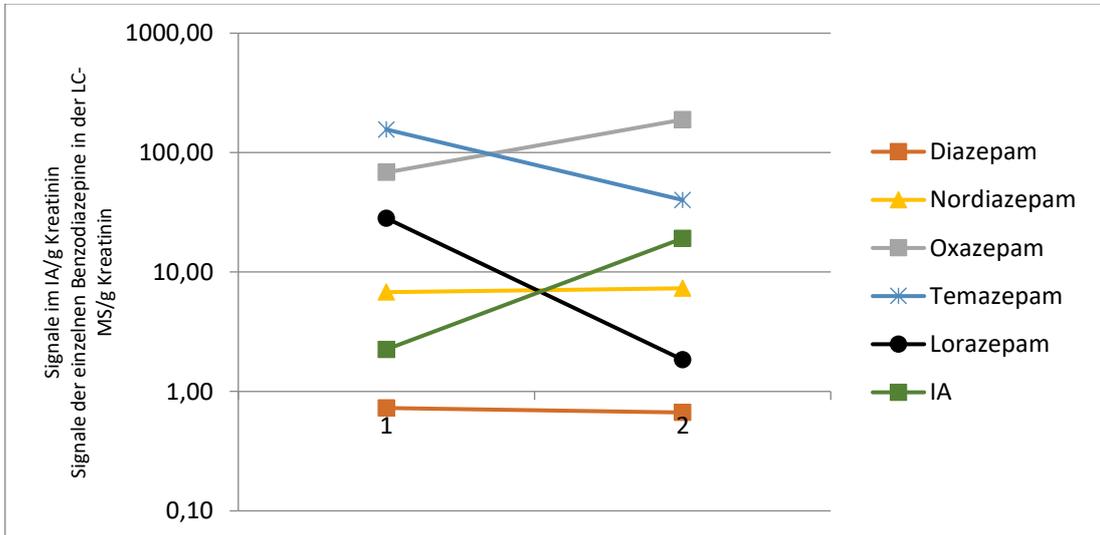
**P10:**



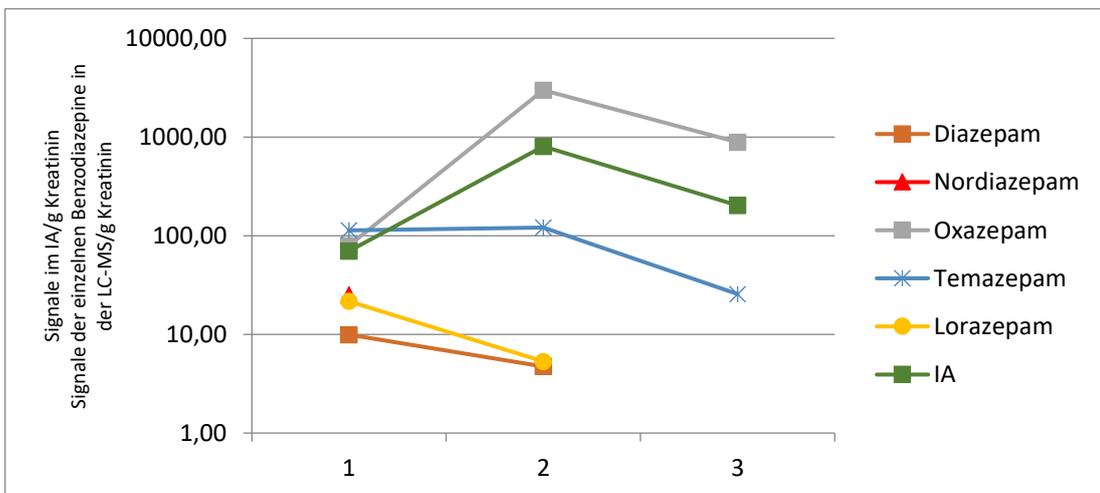
**P11:**



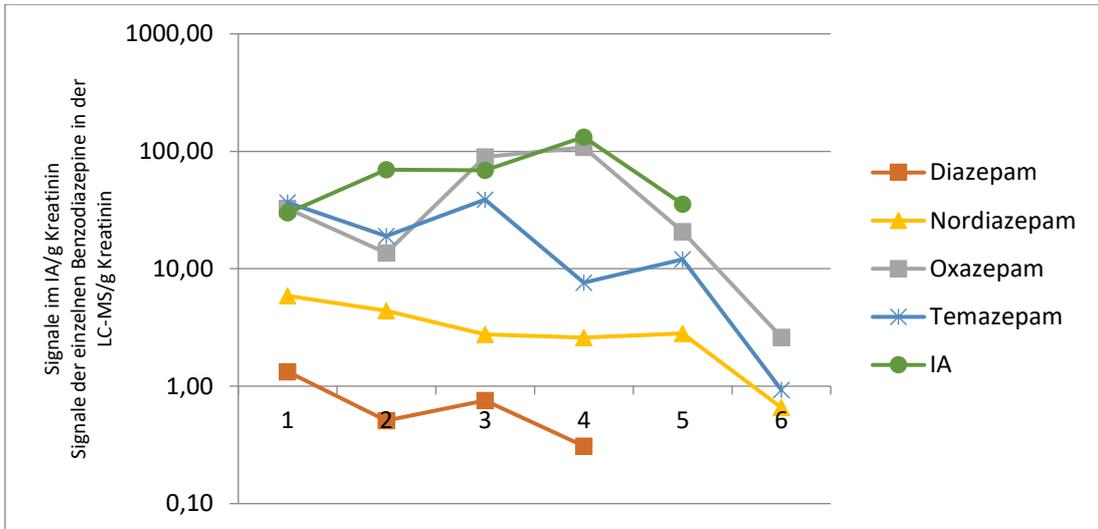
**P12:**



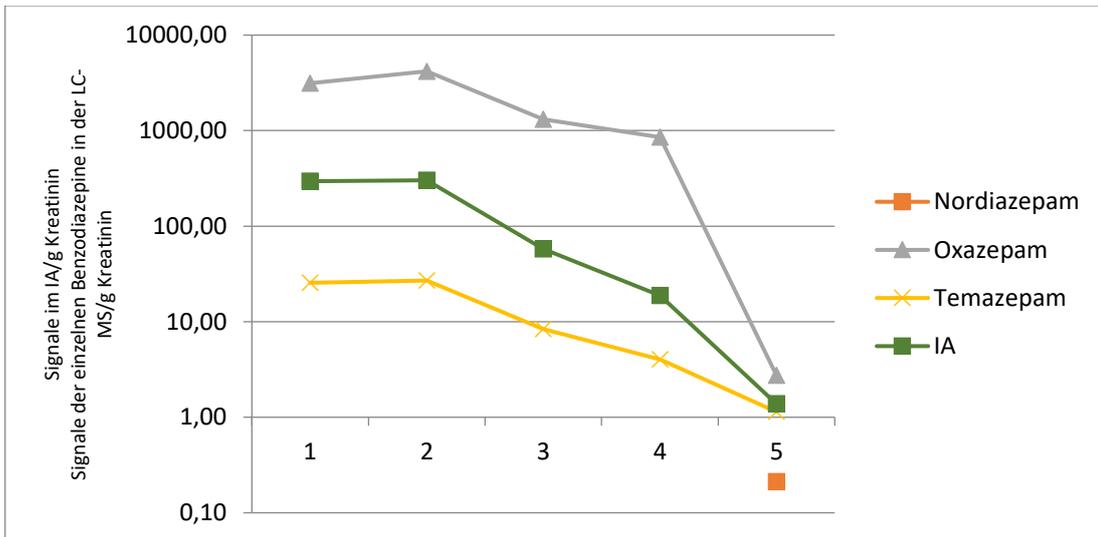
**P13:**



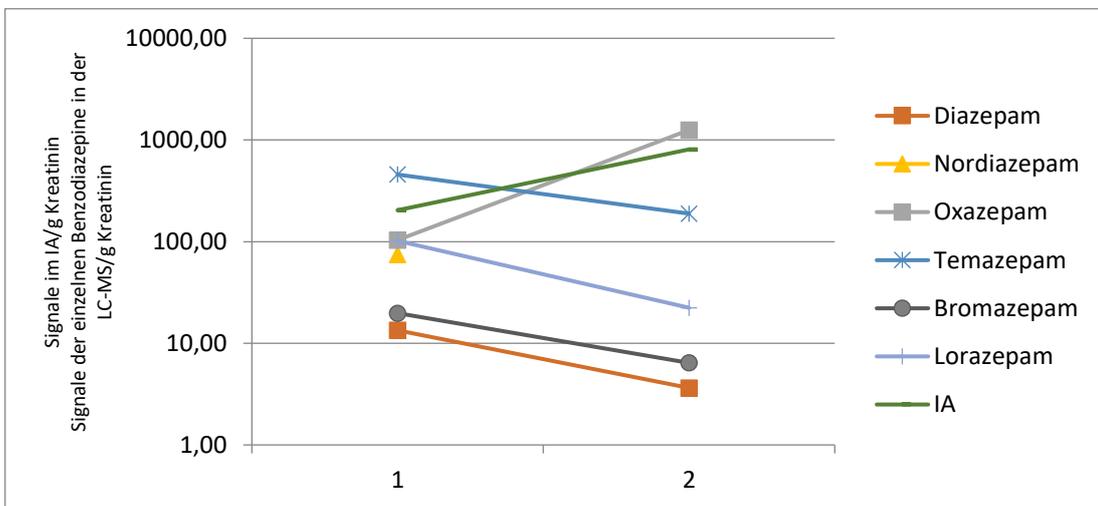
**P14:**



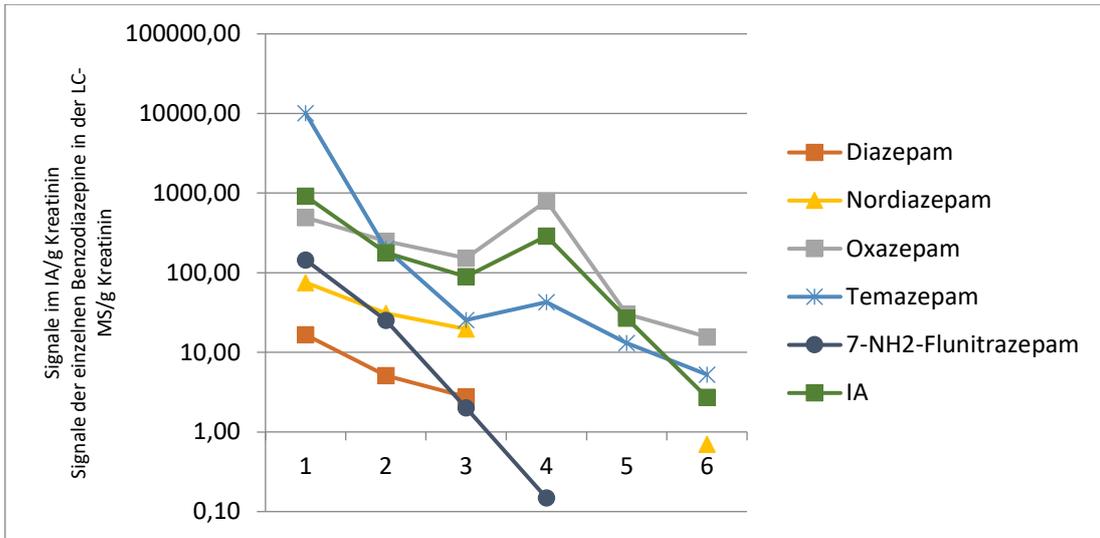
**P16:**



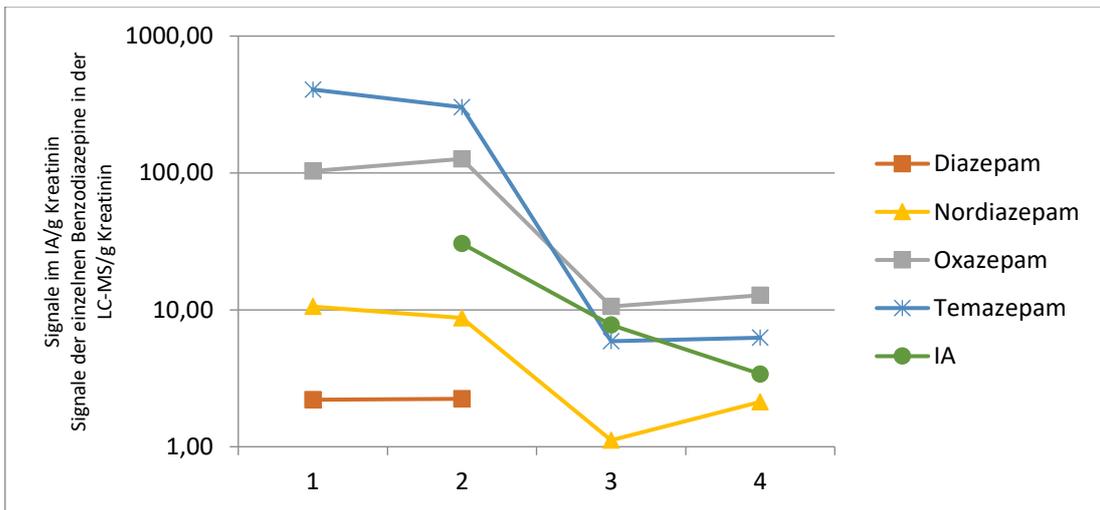
**P17:**



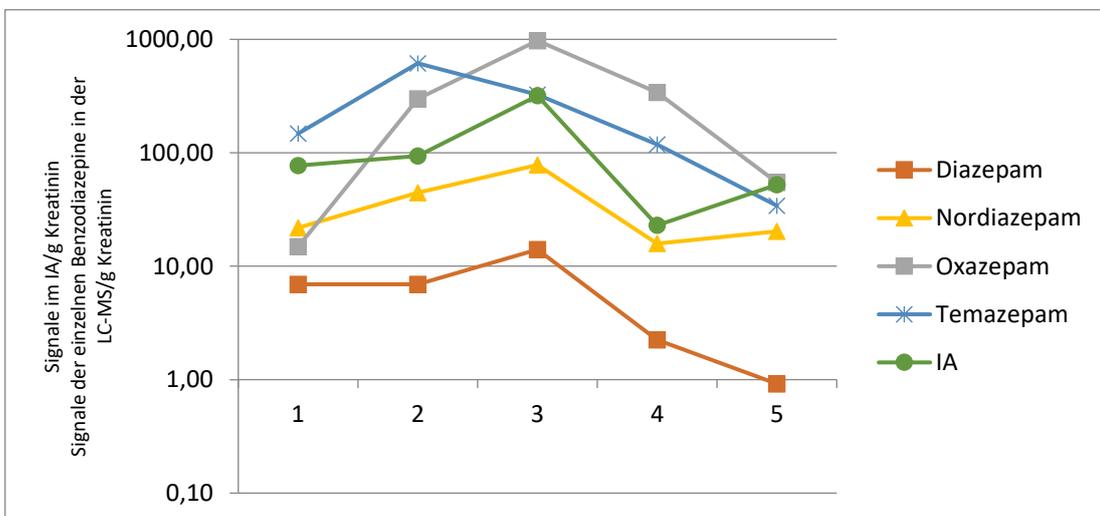
**P18:**



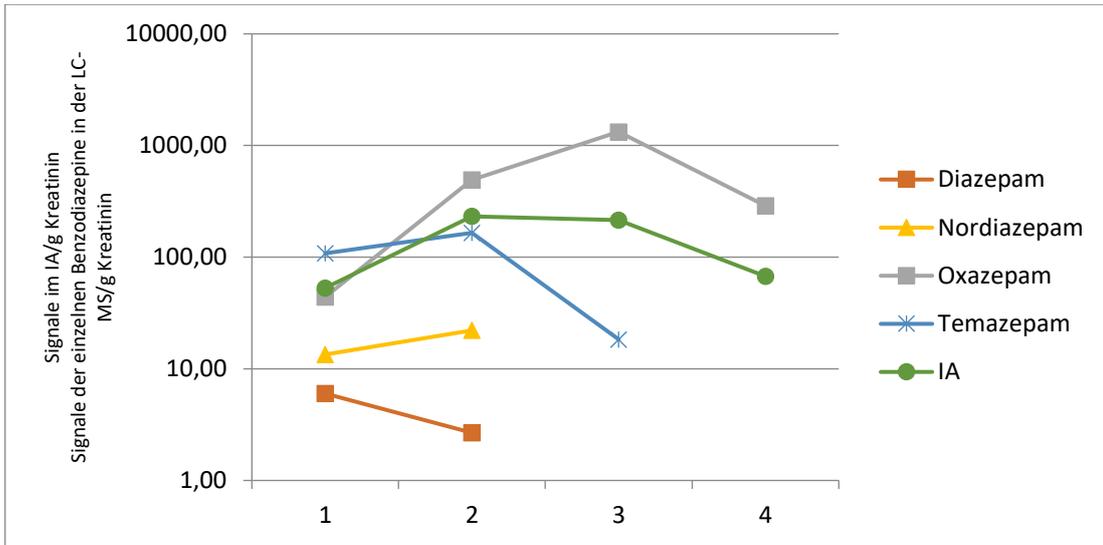
**P19:**



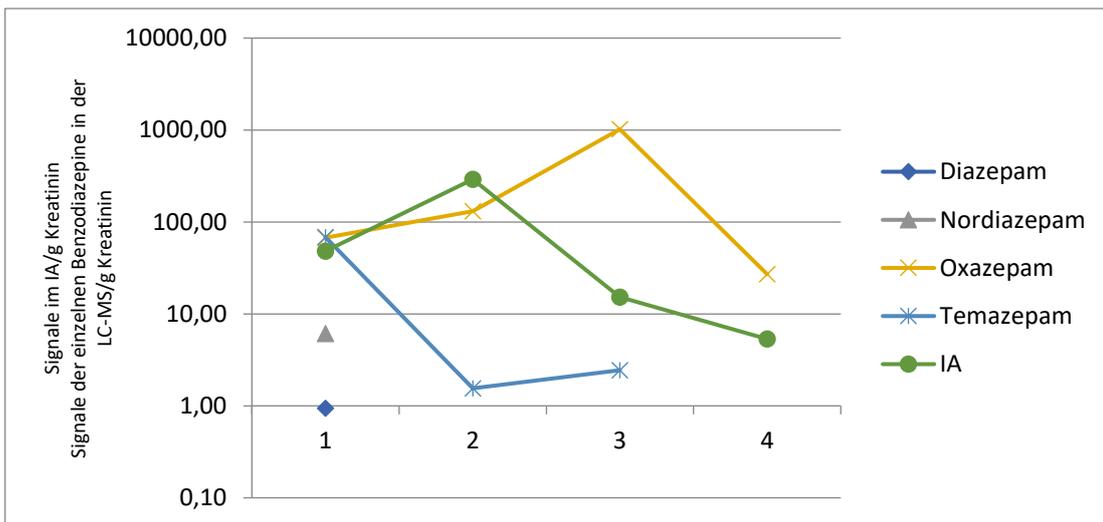
**P20:**



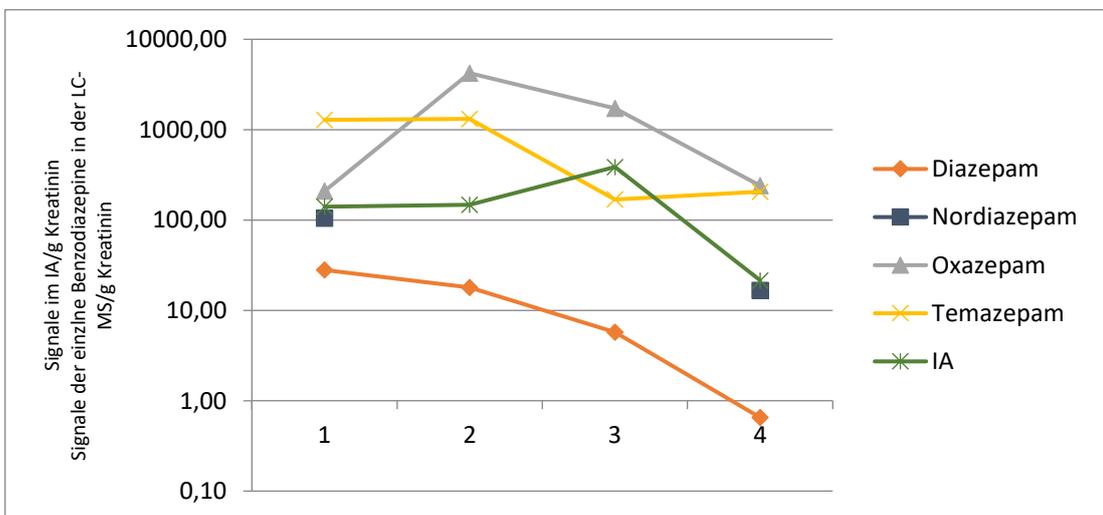
**P21:**



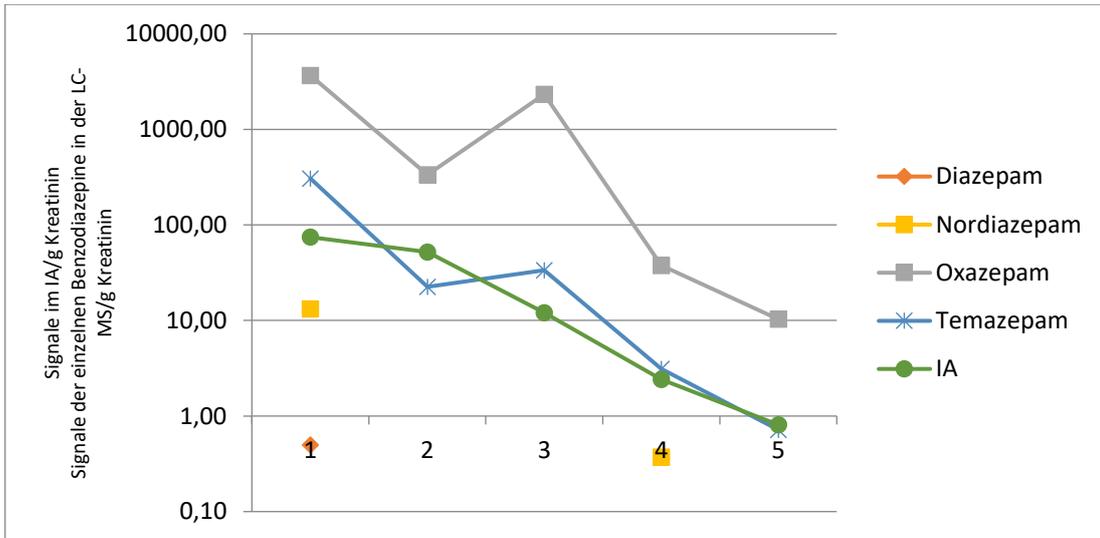
**P22:**



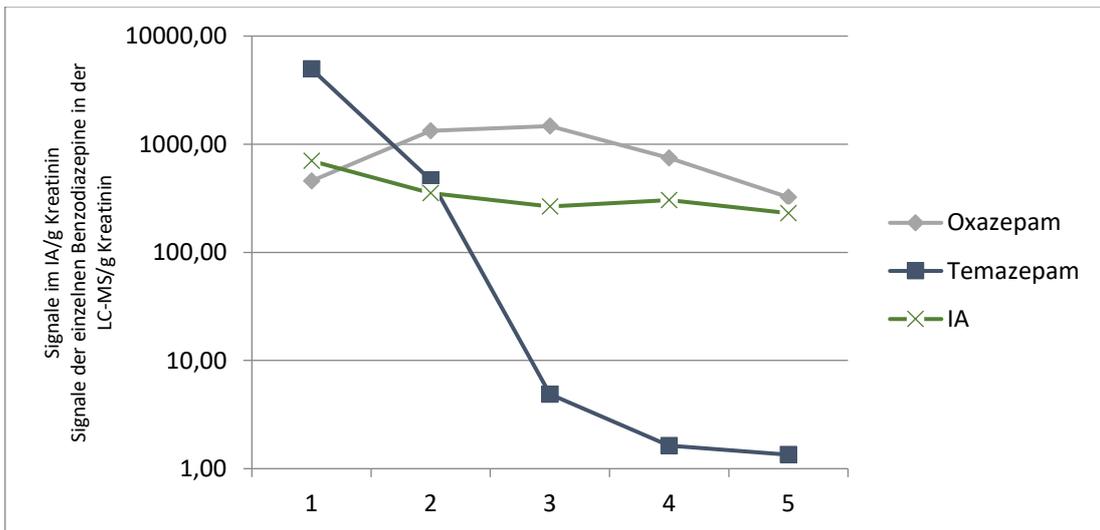
**P23:**



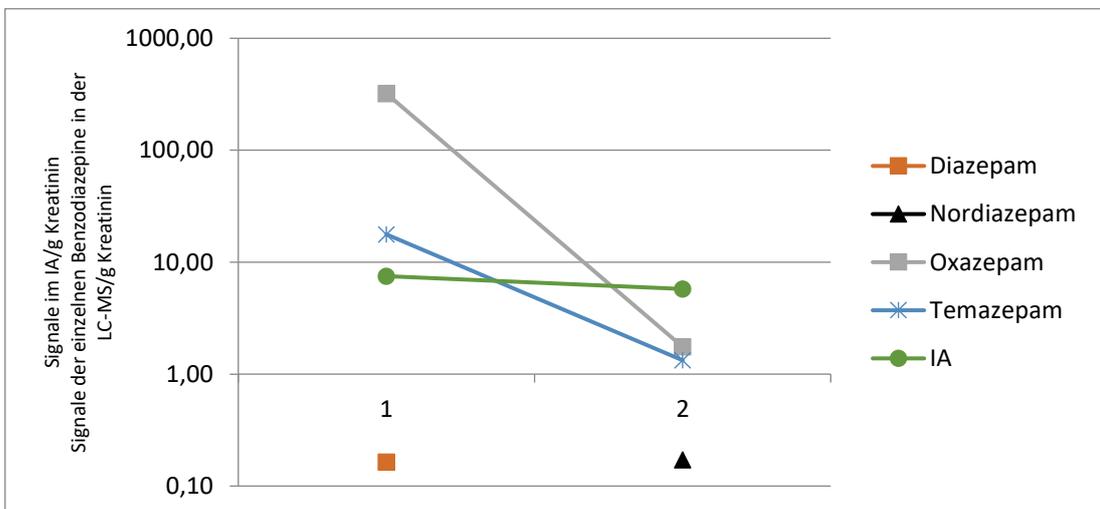
**P24:**



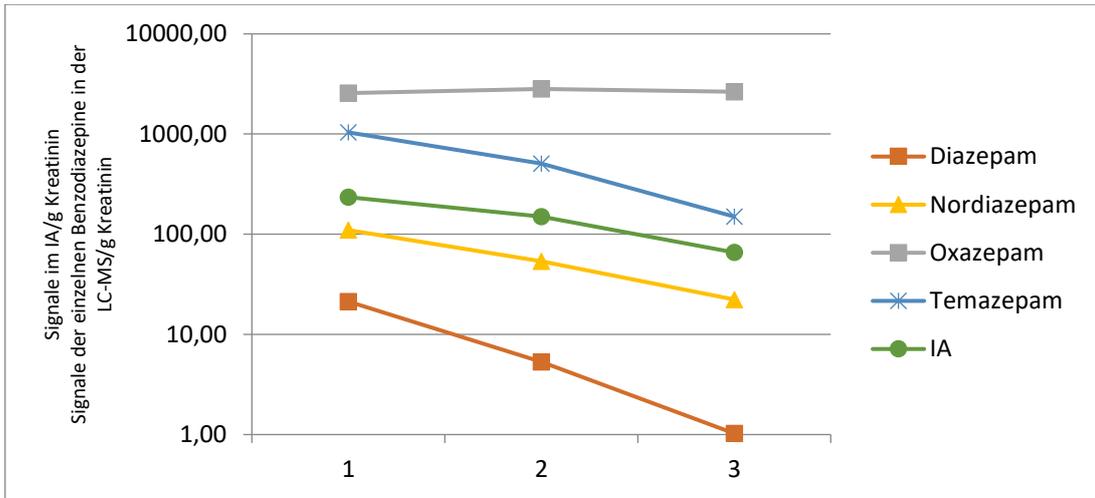
**P25:**



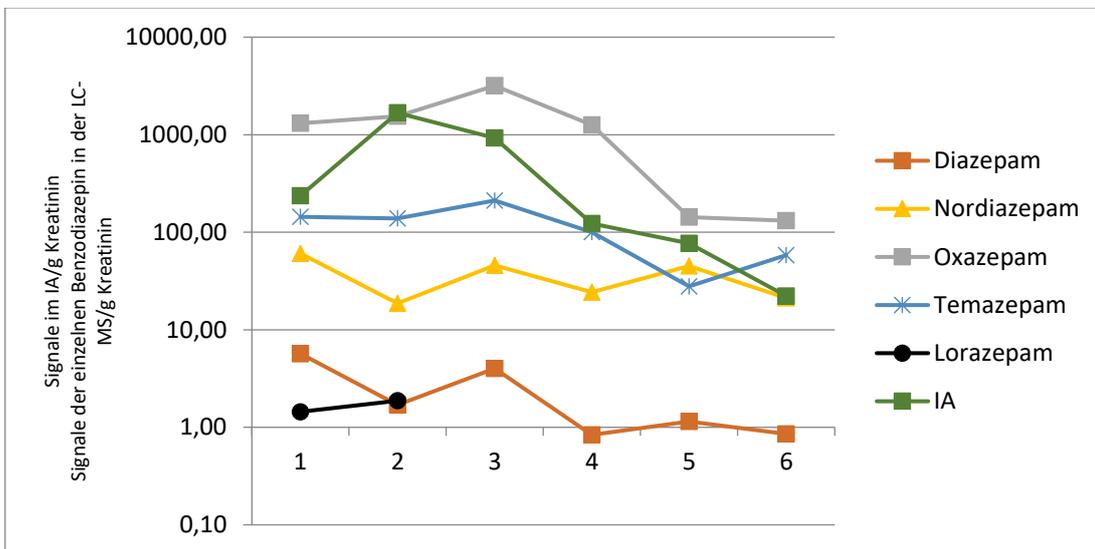
**P26:**



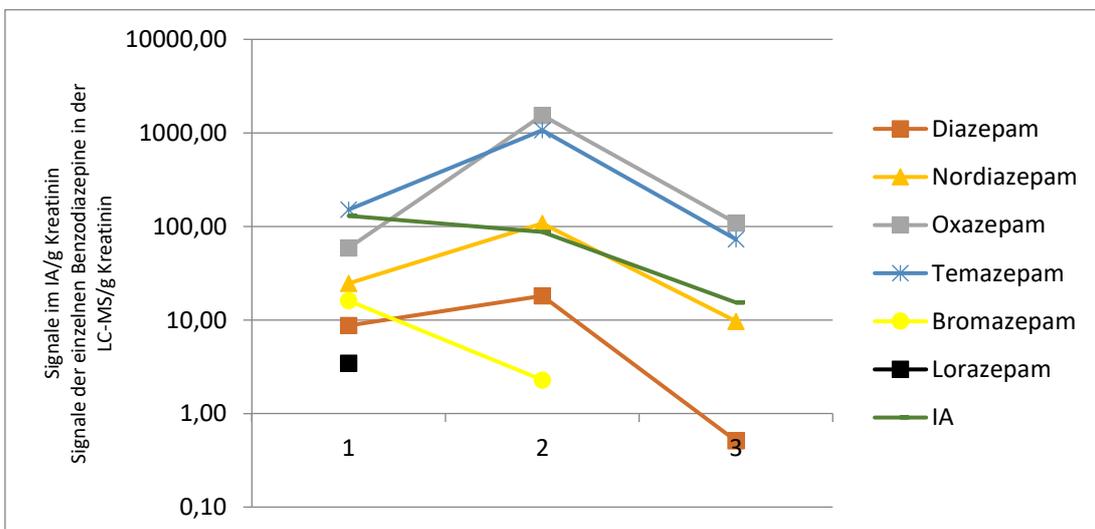
**P28:**



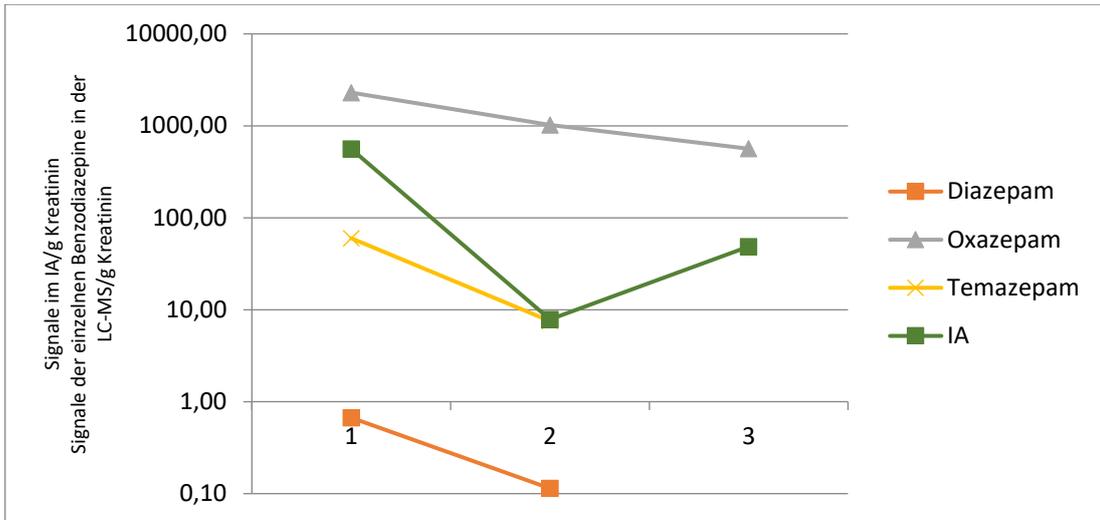
**P29:**



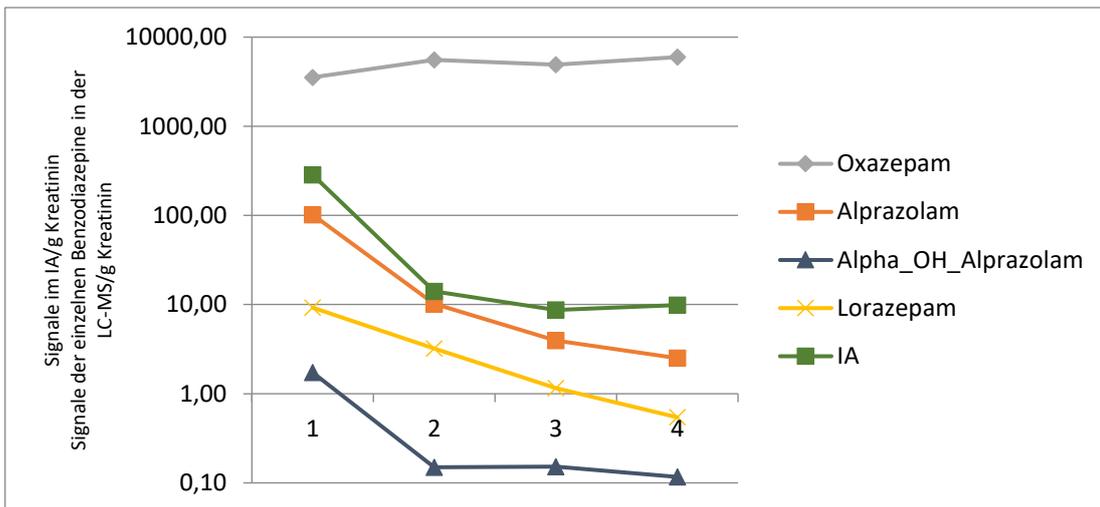
**P30:**



**P32:**



**P33:**



## **10. Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift**

Die Arbeit wurde im Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin des Klinikums Stuttgart unter Betreuung von Herrn Professor Dr. E. Wieland durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte in Zusammenarbeit mit Herrn Prof. Dr. E. Wieland, Klinikleiter, und Frau Dr. med. M. Shipkova, Fachärztin für Laboratoriumsmedizin.

Die Erfassung der klinischen Patientendaten erfolgte durch mich in Zusammenarbeit. Die laborchemischen Untersuchungen wurden vom Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin im Klinikum Stuttgart durchgeführt.

Die statistische Auswertung erfolgte nach Beratung durch Prof. E. Wieland, Dr. med. M. Shipkova und durch mich.

Ich versichere das Manuskript selbstständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

## **11. Veröffentlichungen**

Teile dieser Arbeit wurden auf dem 21. International Congress of Therapeutic Drug Monitoring & Clinical Toxicology vom 24.09. bis 27.09.2023 in Oslo, Norwegen im Rahmen eines Posters vorgestellt.

## **12. Danksagung**

Zuerst möchte ich mich ganz herzlich bei meinem Doktorvater Prof. Dr. E. Wieland und meiner Betreuerin Dr. med. M. Shipkova bedanken für die hervorragende Betreuung während der Erstellung dieser Dissertation.

Bei allen medizinisch-technischen Assistenten -innen möchte ich mich bedanken für die Unterstützung bei den laborchemischen Messungen.

Mein Dank geht auch an Frau Dr. phil. Sonja Kuhn für Ihre unendliche Geduld beim Lesen und Anmerken.

Zuletzt möchte ich mich bei meinen Eltern für all ihre Unterstützung bedanken.