



Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie

Arbeitskreis
Qualitätssicherung

Anhang A **zur Richtlinie der GTFCh zur Qualitätssicherung bei forensisch-toxikologischen Untersuchungen**

Qualitätsanforderungen an die Bestimmung spezieller Analyten aus biologischen Matrices mit Tabellenanhang (aktuelle Vorgaben zu Bestimmungsgrenzen)

Autoren: L. D. Paul, München; F. Mußhoff, Bonn; Untergruppe Richtlinien des AK Qualitätssicherung (F. T. Peters, Jena; G. Skopp, Heidelberg; T. Krämer, Homburg; B. Aebi, Bern; V. Auwärter, Freiburg); D. Thieme, München; G. Schmitt, Heidelberg; M. Herbold, Heidelberg; R. Aderjan, Heidelberg; S. Tönnies, Frankfurt und Autoren der ersetzten Richtlinien (siehe Kapitel Schlussbestimmung); Mitglieder des AK Qualitätssicherung

Seite
1 von 8

Version
01

Änderungshinweise

Keine – erste Fassung

Datum

01.06.2009

Seite

--

Inhaltsverzeichnis

1	Qualitätsanforderungen an die quantitative Bestimmung spezieller Analyten	2
1.1	Bestimmung von Cannabinoiden	3
1.2	Bestimmung von Amphetamin, Methamphetamin und Methylenedioxyamphetaminen.....	4
1.3	Bestimmung von Cocain und Benzoyllecgonin.....	5
1.4	Bestimmung von Opiaten/Opioiden	6
2	Vorgaben für forensische Fragestellungen	7
3	Inkrafttreten.....	8

1 Qualitätsanforderungen an die quantitative Bestimmung spezieller Analyten

Anzuwenden sind jeweils validierte Aufbereitungsverfahren und Messmethoden zur Bestimmung der Zielanalyten in Serum, Plasma, Vollblut, Urin, Haaren oder anderen biologischen Matrices. Zu verwenden sind identifizierende chromatographische Verfahren.

Für forensische Fragestellungen ist zu belegen, dass die gemäß den Richtlinien der GTFCh (Anhang B, Validierung) ermittelte Bestimmungsgrenze für die beweissichere Analyse in Serum/Plasma, Urin oder Haaren kleiner oder gleich der jeweils maximal zulässigen Werte ist.

Kapitel 2 fasst die für forensische Fragestellungen zu erreichenden Bestimmungsgrenzen für spezielle Analyten in üblichen Matrices zusammen. Sofern keine von extern geregelten bzw. gesetzlichen abweichenden Bestimmungen zu Grenzwerten oder Entscheidungsgrenzen bestehen (z.B. Empfehlungen der Grenzwertkommission zu Grenzwerten zu Substanzen aus der Anlage des § 24a (2) StVG in Deutschland) gelten die GTFCh-Bestimmungsgrenzen gemäß diesem Anhang (Tabelle 1).

Für spezielle forensisch-toxikologische Fragestellungen, z.B. im Rahmen der Fahreignungsanalytik (siehe Beurteilungskriterien zur Fahreignungsdiagnostik) oder des workplace drug testing, sind die entsprechenden Vorgaben bezüglich der zu erreichenden Bestimmungsgrenzen zu beachten.

Arbeitsbereiche sollten jeweils so gewählt werden, dass der für die Beurteilung sinnvolle Konzentrationsbereich für einen Großteil der Proben abgedeckt wird.

1.1 Bestimmung von Cannabinoiden

Eine Bestimmung von Cannabinoiden in Serum, Plasma oder Blut muss neben Δ^9 -Tetrahydrocannabinol (THC) mindestens noch den Metaboliten 11-Nor- Δ^9 -tetrahydrocannabinolcarbonsäure (THC-COOH) einschließen; die zusätzliche Bestimmung von 11-Hydroxy- Δ^9 -THC (11-OH-THC) ist für differenzierte Beurteilungen zu empfehlen.

Bei der Bestimmung von THC-COOH muss bedacht werden, dass die Konzentration des Analyten durch Freisetzung aus seinem Glukuronid erhöht sein kann.

Zu beachten ist, dass Vollblut und Serum-/Plasma-Konzentrationen für THC und seine Metaboliten nicht direkt vergleichbar sind. Die Vollblut-Konzentrationen liegen unterhalb derer in Serum oder Plasma.

Bei einer Bestimmung von THC-COOH im Urin ist zumindest in der Fahreignungsdiagnostik eine Hydrolyse vorzunehmen.

Zum Nachweis einer vorausgegangenen Cannabisexposition im Rahmen einer Haaranalyse dient die Detektion des Hauptwirkstoffes THC. Ein Nachweis weiterer Cannabinoide (Cannabinol (CBN), Cannabidiol (CBD)) gilt als Plausibilitätskontrolle, u.a. aufgrund der höheren Stabilität im Vergleich zu THC. Der Nachweis von THC-COOH kann im Einzelfall weitere Aufschlüsse geben. In diesem Falle sind jedoch sehr niedrige Bestimmungsgrenzen für THC-COOH (0,001 ng/mg) zu erreichen.

1.2 Bestimmung von Amphetamin, Methamphetamin und Methylenedioxyamphetaminen

Mit einem geeigneten und validierten Verfahren müssen zumindest Amphetamin, Methamphetamin, 3,4-Methylenedioxyamphetamin (MDMA), 3,4-Methylenedioxyamphetamin (MDA) und 3,4-Methylenedioxyethylamphetamin (MDEA) sowohl qualitativ nachgewiesen als auch quantitativ bestimmt werden können. Auf die Möglichkeit von Verlusten durch Abdampfen insbesondere von Amphetamin bei der Aufarbeitung ist zu achten. Die GC-Injektion underivatisierter primärer Amine wie Amphetamin sollte niemals in Methanol erfolgen, da durch die Umsetzung von Methanol in Formaldehyd die Gefahr der Bildung von Formylartefakten besteht. Bei Einsatz deuterierter interner Standards begünstigen im Allgemeinen die in der Isopropyl-Seitenkette deuterierten Standards den Erhalt charakteristischer Massenspektren. Hierdurch wird die Findung dreier unterschiedlicher Massenfragmente je Substanz erleichtert.

Alleiniges Auftreten von Methamphetamin in einer Blutprobe ist äußerst selten. In der Regel ist auch der Metabolit Amphetamin zu finden. Eine gezielte Auswertung in Bezug auf Amphetamin sollte bei positivem Methamphetamin-Befund in jedem Fall erfolgen. Die Möglichkeit, dass Amphetamin bzw. Methamphetamin als Metaboliten von Medikamenten auftreten, muss berücksichtigt werden. Bei bestehendem Verdacht muss auch auf diese Medikamente geprüft werden. Gegebenenfalls kann eine Enantiomerentrennung zur Aufklärung beitragen.

Ecstasy-Tabletten enthalten im allgemeinen MDMA oder MDEA. MDA kann auch Bestandteil sein, ist aber auch Metabolit von MDMA und MDEA. Da MDA allein nur selten in Blutproben aufgefunden wird, sollte bei einem solchen Befund auch nach den möglichen Muttersubstanzen (MDMA, MDEA) gesucht werden.

1.3 Bestimmung von Cocain und Benzoylecgonin

Es muss ein Extraktions- und Analysenverfahren angewendet werden, bei dem Cocain und Benzoylecgonin (BE), nach Möglichkeit auch Ecgoninmethylester (EME), Ecgoninethylester (EEE) und/oder Cocaethylen aus dem Probenmaterial extrahiert, ggf. geeignet derivatisiert und sowohl qualitativ nachgewiesen als auch quantitativ bestimmt werden.

Cocain verfügt über eine relativ kurze Halbwertszeit, so dass eine alleinige Anwesenheit von Cocain ohne den typischen Metaboliten BE als äußerst unwahrscheinlich zu betrachten ist.

Bei einem fehlenden Nachweis von Cocain kann insbesondere bei Serum-, Plasma- oder Blutproben ohne Fluorid-Zusatz nicht ausgeschlossen werden, dass möglicherweise zum Zeitpunkt der Blutentnahme unverändertes Cocain vorhanden war. Ist kein Fluorid-Zusatz erfolgt, so muss insbesondere bei der Befundmitteilung darauf hingewiesen werden, dass ein Abbau von Cocain bis zum Eintreffen der Probe im Labor bzw. bis zur Analyse nicht ausgeschlossen werden kann. EME findet sich normalerweise nur in geringen Konzentrationen im Blut.

Häufig werden Cocain und Alkohol gemeinsam konsumiert. Hierbei entsteht durch Umesterung in Gegenwart der Carboxylesterase 1 (hCE-1) das Cocaethylen, welches zu EEE abgebaut wird. Ein Nachweis von EEE oder Cocaethylen beweist somit einen kombinierten Konsum von Cocain und Alkohol.

Zum Nachweis eines vorausgegangenen Cocainkonsums dient bei Haaranalysen die Detektion der Muttersubstanz Cocain als Leitsubstanz und, soweit die Cocainkonzentration nicht im Bereich der Bestimmungsgrenze liegt, die zusätzliche Detektion von BE bzw. auch weiteren Metaboliten. Die durch Hydrolyse entstehenden Metaboliten BE und EME beweisen nicht zwingend eine Körperpassage.

1.4 Bestimmung von Opiaten/Opioiden

Es muss ein Extraktions- und Analysenverfahren angewendet werden, bei dem Morphin und Codein, nach Möglichkeit auch 6-Monoacetylmorphin (6-MAM) und Dihydrocodein aus dem Probenmaterial extrahiert, ggf. für die Analysen geeignet derivatisiert und sowohl qualitativ nachgewiesen als auch quantitativ bestimmt werden.

Morphin liegt auch im Blut zum Teil in glukuronidierter Form vor. Je nach Fragestellung sollte neben freiem Morphin auch das Gesamtmorphin (freie und gebundene Anteile) nach Hydrolyse oder die einzelnen Glukuronide direkt bestimmt werden, worauf im Untersuchungsbefund hinzuweisen ist. Codein ist kein Metabolit von Morphin und ist somit nach einer Aufnahme von reinem Morphin oder pharmazeutisch reinem Diacetylmorphin (Heroin) in Körperflüssigkeiten nicht aufzufinden. Allerdings ist Acetylcodein ein Bestandteil von illegalen Heroinzubereitungen, so dass nach einer Straßenheroinapplikation sowohl Morphin als auch Codein, der Metabolit des Acetylcodeins, in freier und konjugierter Form im Blut zu finden sind. Bei einer Aufnahme von illegalem Heroin liegt die Codeinkonzentration deutlich unterhalb der des Morphins. Bei zeitnahe Heroinkonsum ist auf 6-MAM in Blutserum/-plasma oder Urin zu prüfen. Bei der Probenaufbereitung ist auf die Gefahr einer Hydrolyse von 6-MAM zu Morphin zu achten.

Nach einer Codeinaufnahme tritt Morphin als Stoffwechselprodukt teils in freier, aber vornehmlich in gebundener Form im Blut auf und ca. 10% einer Einzeldosis werden im Urin als Morphin bzw. Morphinkonjugate ausgeschieden. In der Endausscheidungsphase können sich die Konzentrationen von Morphin und Codein angleichen oder umkehren.

Methadon wird hauptsächlich zu seinem Metaboliten EDDP verstoffwechselt, das jedoch auch bei der GC-MS-Analyse entstehen kann.

Auch andere Opioide wie Buprenorphin, Tilidin, Tramadol und Fentanyl können relevant sein.

Zum Nachweis eines vorausgegangenen Heroinkonsums bei Haaranalysen dient die Detektion des charakteristischen Metaboliten 6-Monoacetylmorphin (6-MAM) als Leitsubstanz, zusätzlich soll Morphin und ggf. auch Heroin selbst mit erfasst werden. Bei der Probenaufbereitung besteht die Gefahr einer Hydrolyse von Heroin zu 6-MAM und von 6-MAM zu Morphin, besonders unter sauren aber auch unter alkalischen Bedingungen. Ein Hinweis darauf ist ein Metabolitenverhältnis 6-MAM zu Morphin kleiner 1,3.

2 Vorgaben für forensische Fragestellungen

Tabelle 1: Liste der GTFCh bezüglich der zu erreichenden Bestimmungs- bzw. Nachweisgrenzen für Missbrauchsdrogen und deren Metaboliten nach forensischen Erfordernissen in verschiedenen Matrices, bestimmt mittels beweisenden chromatographischen Methoden.

Substanzklasse	Serum/Plasma [µg/L]	Urin ² [µg/L]	Haare ² [ng/mg]
Cannabinoide			
Delta-9-Tetrahydrocannabinol (THC)	1	-	0,02
Delta-9-Tetrahydrocannabinol-9-carbonsäure (THC-COOH)	10 ¹	10 (nach Hydrolyse)	-
Amphetamin und Derivate			
Amphetamin	25	200	0,1
Methamphetamin	25	200	0,1
MDMA	25	200	0,1
MDA	25	200	0,1
MDEA	25	200	0,1
Cocain und Metaboliten			
Cocain	10	-	0,1
Benzoylcegonin	30	30	0,1
Opiate/Opioide			
Morphin	10	25 (nach Hydrolyse)	0,1
Codein	10	25 (nach Hydrolyse)	0,1
6-Monoacetylmorphin	2 ²	10	0,1
Methadon	50	200	0,1
EDDP	-	200	0,1

¹ Bei bestimmten Fragestellungen tiefer

² Nachweisgrenze, semiquantitativer Wert

Die Serum/Plasma-Werte erfüllen die Vorgaben der Grenzwertkommission für Substanzen aus der Anlage des § 24a (2) StVG zur Anwendung einer Ordnungswidrigkeit nach Stand des Inkrafttretens bzw. der letzten Änderung dieses Anhangs.

Im Rahmen der Fahreignungsdiagnostik gelten die Vorgaben gemäß Beurteilungskriterien in ihrer jeweils aktuellen Version.

Tabelle 2: Laut Verordnung des Bundesamts für Straßen (ASTRA) der Schweiz zur Straßenverkehrskontrollverordnung geltende Grenzwerte im Vollblut für eine Fahrunfähigkeit

Substanzklasse	Vollblut [µg/L]
Cannabinoide	
Delta-9-Tetrahydrocannabinol (THC)	1,5
Amphetamin und Derivate	
Amphetamin	15
Methamphetamin	15
MDMA	15
MDEA	15
Cocain und Metaboliten	
Cocain	15
Opiate/Opioide	
freies Morphin	15

3 Inkrafttreten

Diese Anlage wurde gemäß Beschluss des Vorstandes der GTFCh vom 01.04.2009 verabschiedet und tritt mit der Publikation im Toxichem + Krimtech in Kraft.

Es gelten Übergangsfristen bis 31.03.2011.