

Aus dem Arbeitskreis Qualitätskontrolle

Anlagen zu den Richtlinien der GTFCh zur Qualitätssicherung bei forensisch-toxikologischen Untersuchungen ¹

Anhang B2: Qualitätsstandards für spezielle Analyten

F. Mußhoff, Bonn; T. Daldrup, Düsseldorf; R. Aderjan, Heidelberg; L. v. Meyer, München

B.2.1 Gaschromatographisch-massenspektrometrische Bestimmung von Amphetamin, Methamphetamin und Methylenedioxyamphetaminen aus Serum oder Blut

Es muss ein geeignetes und validiertes Extraktions- und Analysenverfahren angewendet werden, mit dem zumindest Amphetamin, Methamphetamin, 3,4-Methylenedioxy-N-methylamphetamin (MDMA), 3,4-Methylenedioxy-N-ethylamphetamin (MDEA) und 3,4-Methylenedioxyamphetamin (MDA) 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 Aufbewahrung und insbesondere GC-Injektion primärer Amine wie Amphetamin sollte niemals in Methanol erfolgen, da durch die Umsetzung von Methanol in Formaldehyd die Gefahr der Bildung von Formylartefakten droht. 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. Die Bestimmung der analytischen Grenzwerte erfolgt über aufgestockte Serum- bzw. Blutproben. Für Amphetamin, Methamphetamin, MDMA, MDEA und MDA ist der Einsatz von Standards mit folgenden Konzentrationen zu empfehlen: 0, 20, 40, 60, 80, 100 µg/l.

Für forensische Fragestellungen zu ist zu belegen, dass die Nachweisgrenzen der verwendeten Methode kleiner gleich 15 µg/l Serum/Blut liegen. Die Linearität sollte über einen Konzentrationsbereich bis zu 1000 µg/l abgesichert sein.

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. 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 Methamphetaminbefund in jedem Fall erfolgen. Die Möglichkeit, dass Amphetamin bzw. Methamphetamin als Metabolite von Medikamenten auftreten, muss berücksichtigt werden. Bei bestehendem Verdacht muss auch auf diese Medikamente geprüft werden. Gegebenenfalls kann eine Enantiomerentrennung zur Aufklärung beitragen.

B.2.2 Gaschromatographisch-massenspektrometrische Bestimmung von Δ^9 -Tetrahydrocannabinol und 11-Nor- Δ^9 -tetrahydrocannabinolcarbonsäure in Serum oder Blut

Anzuwenden ist ein validiertes Extraktions- und Analyseverfahren mit dem Δ^9 -Tetrahydrocannabinol (THC) und 11-Nor- Δ^9 -tetrahydrocannabinol-carbonsäure (THC-COOH) aus Blut/Serum extrahiert und ggf. für die Analysen geeignet derivatisiert werden. Die zusätzliche

¹ Toxichem + Krimtech 65 (1): 18-24 (1998), Anhang A: Toxichem + Krimtech 67 (1) 13-16 (2000), Anhang B1 Toxichem + Krimtech 67 (3) 91-93 (2000).

Bestimmung von 11-Hydroxy-THC ist für differenzierte Beurteilungen zu empfehlen. Die Bestimmung der analytischen Grenzwerte erfolgt über aufgestockte Serum bzw. Blutproben. Für THC (und 11-Hydroxy-THC) ist der Einsatz von Standards mit folgenden Konzentrationen zu empfehlen: 0, 1, 2, 3, 4, 5 µg/l. Für THC-COOH sind folgende Konzentrationen zu empfehlen: 0, 10, 20, 30, 40, 50 µg/l.

Für forensische Fragestellungen ist zu belegen, dass die gemäß diesen Richtlinien bestimmte Nachweisgrenze für THC kleiner gleich 1 µg/l und für THC-COOH kleiner gleich 10 µg/l beträgt. Bei bestimmten Fragestellungen kann der Beleg gefordert werden, dass auch für THC-COOH die Nachweisgrenze kleiner gleich 1 µg/l beträgt. In diesen Fällen ist der Einsatz von Standards analog zu THC zu empfehlen.

Zur Quantifizierung von über dem Kalibrationsbereich liegenden Werten können Standards nach eigener Wahl, vorzugsweise bei 100 µg/l für THC und 500 µg/l für THC-COOH, zugezogen werden. Die Linearität ist dann ggf. bis hin zu diesen Werten zu sichern.

THC verteilt sich rasch im Körper, so dass der gleichzeitige Nachweis von Metaboliten wie THC-COOH und 11-Hydroxy-THC als biologische Plausibilitätskontrolle für die THC-Aufnahme herangezogen werden kann. Bei der Bestimmung von THC-COOH muss gewährleistet sein, dass die Konzentration des Analyten nicht durch Freisetzung aus dem Glucuronid verfälscht wird. Auf mögliche Verluste infolge nicht rechtzeitiger sachgerechter Lagerung der Serumproben in eingefrorenem Zustand oder ungünstiger Analysenbedingungen bei der Bestimmung aus Blutproben ist ggf. hinzuweisen.

B.2.3 Gaschromatographisch-massenspektrometrische Bestimmung von Cocain und Benzoylecgonin aus Serum oder Blut

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

Die Bestimmung der analytischen Grenzwerte erfolgt über aufgestockte Serum- bzw. Blutproben. Für Benzoylecgonin ist der Einsatz von Standards mit folgenden Konzentrationen zu empfehlen: 0, 50, 100, 150, 200, 250 µg/l. Die Kalibration von Cocain sollte mit den Kalibratoren 0, 2, 4, 6, 8, 10 µg/l durchgeführt werden.

Für Benzoylecgonin ist für forensische Fragestellungen zu belegen, dass die Nachweisgrenze der verwendeten Methode kleiner gleich 50 µg/l Serum/Blut liegt, für EME, EEE und Cocaethylen müssen sie niedriger liegen. Für Cocain ist eine Nachweisgrenze kleiner gleich 2 µg/l zu belegen. Die Linearität sollte für Cocain und BE über einen Konzentrationsbereich bis zu 1000 µg/l abgesichert sein, für EME, EEE und Cocaethylen bis zu 100 µg/l.

Cocain verfügt über eine relativ kurze Halbwertszeit, so dass eine alleinige Anwesenheit von Cocain ohne dem typischen Metaboliten BE als äußerst unwahrscheinlich zu betrachten ist. Bei einem fehlenden Nachweis von Cocain kann insbesondere bei Proben ohne NaF-Zusatz nicht ausgeschlossen werden, dass möglicherweise zum Zeitpunkt der Blutentnahme unverändertes Cocain vorhanden war. Ist kein NaF-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 Carb-oxylesterase 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.

B.2.4 Gaschromatographisch-massenspektrometrische Bestimmung von Morphin und Codein aus Serum oder Blut

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

Die Bestimmung der analytischen Grenzwerte erfolgt über aufgestockte Serum- bzw. Blutproben. Für Morphin ist der Einsatz von Standards mit folgenden Konzentrationen zu empfehlen: 0, 10, 20, 30, 40, 50 µg/l.

Für Morphin ist für forensische Fragestellungen zu belegen, dass die Nachweisgrenze der verwendeten Methode kleiner gleich 10 µg/l Serum/Blut liegt. Für MAM sollte die Nachweisgrenze bei 2 µg/l liegen. Die Linearität sollte über einen Konzentrationsbereich bis zu 250 µg/l abgesichert sein, gleiches gilt für Codein, für Dihydrocodein können höhere Konzentrationsbereiche relevant sein.

Morphin liegt im Blut zum Teil in glucuronidierter Form vor. Je nach Fragestellung sollte neben dem freien Morphin das Gesamtmorphin (freie und gebundene Anteile) nach Hydrolyse bestimmt werden, worauf im Untersuchungsbefund hinzuweisen ist. Codein ist kein Metabolit von Morphin und ist somit nach einer Aufnahme von reinem Morphin nicht aufzufinden. Allerdings ist Codein ein Bestandteil von illegalen Heroinzubereitungen, so dass nach einer Heroinapplikation sowohl Morphin als auch Codein in freier und konjugierter Form im Blut zu finden sind. Nach einer Codeinaufnahme wird ca. 10 % als Morphin teils in freier, aber vornehmlich in gebundener Form ausgeschieden, d.h. Morphin tritt nach Codeinaufnahme als Stoffwechselprodukt im Blut auf. Bei einer Aufnahme von illegalem Heroin liegt die Codeinkonzentration deutlich unterhalb der des Morphins.

B 2.5 Zusammenfassung der empfohlenen Kalibrationswerte

Die in den Abschnitten B 2.1 bis B 2.4 empfohlenen Konzentrationen für die Kalibrierung sind in folgender Tabelle zusammengefasst:

Substanzen	Kalibration [µg/l]
Amphetamin, Methamphetamin, MDMA, MDA, MDEA	0, 20, 40, 60, 80, 100
THC	0, 1, 2, 3, 4, 5
THC-COOH	0, 10, 20, 30, 40, 50
Cocain	0, 2, 4, 6, 8, 10
Benzoylecgonin	0, 50, 100, 150, 200, 250
Morphin	0, 10, 20, 30, 40, 50

Schlußbestimmung

Diese Anlage zu den Richtlinien der GTFCh zur Qualitätssicherung bei forensisch-toxikologischen Untersuchungen wurde vom Vorstand der GTFCh am 14. März 2002 verabschiedet.