

Spezielle Regeln für den Bereich forensische Blutalkoholbestimmung

71 SD 3 008 | Revision: 1.1 | 04.03.2013

Geltungsbereich:

Diese Regel legt Anforderungen zur Akkreditierung von Prüflaboratorien fest, die forensische Blutalkoholbestimmungen durchführen. Die Regel konkretisiert bestimmte Anforderungen der DIN EN ISO/IEC 17025 „Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien“ (kurz: ISO 17025) sowie der allgemeinen Regel zur Umsetzung der ISO 17025 für forensische Laboratorien (71 SD 3 004). Diese Regel basiert auf der entsprechenden Richtlinie, die von der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, der Deutschen Gesellschaft für Verkehrsmedizin und der Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie herausgegeben wurde.

Zu jedem Abschnitt gelten zusätzlich immer die Anforderungen der Regel 71 SD 3 004 und/oder der ISO 17025.

Es gelten weiterhin die jeweils aktuell veröffentlichten Gremienbeschlüsse für den Bereich Forensische Medizin, Toxikologie, Biologie (71 SD 3 014)

Die im Kapitel 3 verwendete Gliederung korrespondiert mit der Nummerierung der ISO 17025.

Datum der Bestätigung durch den Akkreditierungsbeirat: 12.07.2013

In diesem Dokument wird im Interesse der Lesbarkeit grundsätzlich die männliche Form von Funktionsbezeichnungen verwendet; dies schließt die weibliche Form ein.

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | Zweck / Geltungsbereich | 3 |
| 2 | Begriffe..... | 3 |
| 3 | Beschreibung | 3 |
| Zu 1 | Einführung und Anwendungsbereich | 3 |
| Zu 2 | Normative Verweisungen | 4 |
| Zu 3 | Begriffe..... | 4 |
| Zu 4 | Anforderungen an das Management..... | 4 |
| Zu 4.1 | Organisation | 4 |
| Zu 4.13 | Lenkung von Aufzeichnungen..... | 4 |
| Zu 5.2 | Personal | 4 |
| Zu 5.3 | Räumlichkeiten und Umgebungsbedingungen..... | 5 |
| Zu 5.4. | Prüf- und Kalibrierverfahren und deren Validierung..... | 5 |
| Zu 5.6. | Messtechnische Rückführung..... | 7 |
| Zu 5.7. | Probenahme | 7 |
| Zu 5.8. | Handhabung von Prüf- und Kalibriergegenständen | 7 |
| Zu 5.9 | Sicherung der Qualität von Prüf- und Kalibrierergebnissen | 8 |
| Zu 5.10 | Ergebnisberichte..... | 9 |
| 4 | Mitgeltende Unterlagen | 10 |

1 Zweck / Geltungsbereich

Diese Regel legt Anforderungen zur Akkreditierung von Prüflaboratorien fest, die forensische Blutalkoholbestimmungen durchführen. Die Regel konkretisiert bestimmte Anforderungen der DIN EN ISO/IEC 17025 „Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien“ (kurz: ISO 17025) sowie der allgemeinen Regel zur Umsetzung der ISO 17025 für forensische Laboratorien (71 SD 3 004). Diese Regel basiert auf der entsprechenden Richtlinie, die von der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, der Deutschen Gesellschaft für Verkehrsmedizin und der Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie herausgegeben wurde.

Zu jedem Abschnitt gelten zusätzlich immer die Anforderungen der Regel 71 SD 3 004 und/oder der ISO 17025.

Es gelten weiterhin die jeweils aktuell veröffentlichten Gremienbeschlüsse für den Bereich Forensische Medizin, Toxikologie, Biologie (71 SD 3 014)

2 Begriffe

Siehe unter 3 Beschreibung

3 Beschreibung

Zu 1 Einführung und Anwendungsbereich

(Auszug aus den Richtlinien zur Bestimmung der Blutalkoholkonzentration im Blut für forensische Zwecke - BAK-Richtlinie - von Mai 2011)

Im Gutachten des Bundesgesundheitsamtes wurden zur Bestimmung des Blutalkohols bei Verkehrsstraftaten 1966 Richtlinien formuliert, die in der Folge mehrfach, nicht zuletzt durch höchstrichterliche Rechtsprechung, dem jeweils aktuellen Stand der Wissenschaft und Technik angepasst wurden. Im Jahr 2010 ist die letzte Anpassungsempfehlung erschienen, die gemeinsam von der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin (DGRM), der Deutschen Gesellschaft für Verkehrsmedizin (DGVM) und der Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie (GTFCh) herausgegeben wurde.

Die spezielle Regel für die den Bereich Blutalkoholbestimmung für forensische Zwecke wird mit dieser Ausgabe an die geänderte Fassung der BAK-Richtlinie angepasst.

Der Zweck der Alkoholbestimmung im Blut besteht darin, Blutalkoholkonzentrationen für forensische Zwecke mit Beweiskraft zu ermitteln. Unter der Bezeichnung "Alkohol" ist hier und im folgenden Ethanol zu verstehen.

Zu 2 Normative Verweisungen

Siehe ISO 17025

Zu 3 Begriffe

Siehe ISO 17025 und Allgemeine Regel zur Umsetzung der ISO 17025 für forensische Laboratorien (71 SD 3 004).

Zu 4 Anforderungen an das Management

Zu 4.1 Organisation

Zu 4.1.5 c)

Der jeweilige Auftraggeber ist Geheimnisherr. Es ist durch entsprechende Datensicherung zu garantieren, dass unbefugte Dritte keinerlei geheimnisgeschützte Informationen erhalten. Das bezieht sich nicht nur auf den BAK-Wert einer bestimmten Blutprobe, sondern auf die Tatsache, ob überhaupt Untersuchungsmaterial einer konkreten Person vorhanden ist.

Zu 4.13 Lenkung von Aufzeichnungen

Zu 4.13.1.2/4.13.1.3

Die Aufzeichnungen, inkl. der von den Geräten ausgegebenen Rohdaten, sind aufzubewahren.

Die Befundberichte, Messwertprotokolle und Qualitätskontrollkarten sind 6 Jahre aufzubewahren.

Zu 5.2 Personal

Zu 5.2.1/5.2.2

Der Leiter / die Leiterin des Laboratoriums muss ein abgeschlossenes naturwissenschaftliches oder medizinisches Hochschulstudium aufweisen. Für Untersuchungen zu forensischen Zwecken ist eine entsprechende forensische Qualifikation (Weiterbildung) nachzuweisen, ferner ist eine Fortbildung durch die regelmäßige Teilnahme an einschlägigen Fortbildungsveranstaltungen zu belegen.

Beim technischen Personal wird eine qualifizierte Berufsausbildung auf dem Gebiet der Laboranalytik vorausgesetzt. Fortbildung im forensischen Arbeitsbereich ist nachzuweisen.

Zu 5.3 Räumlichkeiten und Umgebungsbedingungen

Zu 5.3.1/5.3.3

Die Bestimmung der Alkoholkonzentration im Blut für forensische Zwecke darf nur in dafür speziell ausgewiesenen Laborräumlichkeiten durchgeführt werden. Jegliche Kontamination der Blutproben, Standards, Reagenzien und Laborgeräte durch flüchtige, insbesondere alkoholhaltigen Stoffen (auch Isopropanol u. a.) muss ausgeschlossen sein. Die beiden Analysenverfahren sind an zwei unabhängigen, getrennten Arbeitsplätzen durchzuführen.

Zu 5.4. Prüf- und Kalibrierverfahren und deren Validierung

Zu 5.4.1

Die Alkoholkonzentration ist grundsätzlich durch zwei differente Methoden zu messen. Dazu müssen ein Alkoholdehydrogenase-(ADH-)Verfahren und ein Gaschromatographie-(GC-) Verfahren oder alternativ zwei differente GC-Verfahren eingesetzt werden.

Beide Analyseverfahren müssen an unabhängigen Arbeitsplätzen mit getrennten Gerätschaften und jeweils eigenem technischen Personal durchgeführt werden, d.h. es darf nicht arbeitsplatzübergreifend gearbeitet werden. Die Analysen müssen jeweils auf eine Methode bezogen von einer Person von Beginn bis mindestens zum Ende der Messwertermittlung durchgeführt werden. Eine Arbeitsteilung ist unzulässig. Essentiell ist, dass die Messwerte erst am Ende zusammengeführt werden. Berechnung, Bewertung und Dokumentation der Alkoholkonzentrationen dürfen auch von einer dritten Person vorgenommen werden.

Die Bestimmung der Alkoholkonzentration erfolgt in allen Fällen, in denen entsprechendes Material zu erlangen ist, im Serum/Plasma (Ausnahme z.B. Leichenblute). Im Befundbericht wird die Konzentration im Vollblut angegeben. Die Berechnung der Blutalkoholkonzentration aus der Serum- bzw. Plasmaalkoholkonzentration erfolgt, dem Verteilungsverhältnis des Wassers zwischen Serum/Plasma und Vollblut entsprechend, durch Division mit 1,20. Werden wässrige Kalibrierlösungen verwendet, die Alkoholkonzentrationen in mg/mL oder g/L ausweisen, ist mit dem Divisor 1,03 (Dichte des Serums) auf mg/g bzw. auf g/kg umzurechnen. Der kombinierte Divisor beträgt demzufolge 1,236.

Ist kein Serum/Plasma zu gewinnen, kann die Analyse aus Vollblut vorgenommen werden. Zur Berücksichtigung der Dichte (Vollblut) ist mit dem Divisor 1,06 auf mg/g bzw. g/kg umzurechnen. Bei Einsatz verdünnter Proben im Dampfdruckverfahren (Verdünnung um mindestens das 4fache) muss kein Korrekturfaktor für die Dampfdruckhöhung berücksichtigt werden. Wird anderes Untersuchungsmaterial verwendet, sind dafür spezielle Arbeitsanweisungen erforderlich.

Zu 5.4.2

Mit jeder Methode sind jeweils zwei unabhängige Messwerte auf drei Stellen nach dem Komma zu bestimmen. Daher sind pro Methode jeweils zwei Abfüllungen gleicher Volumina bzw. gleichen Gewichts (Aliquotierung) erforderlich, die bei Raumtemperatur erfolgen müssen. Beide Methoden sind vor ihrem Einsatz in der Routine nach den Richtlinien der GTFCh zu validieren, wobei eine Überprüfung der Verwendbarkeit wässriger Kalibratoren entfallen kann.

Kalibrierung und Qualitätskontrollen erfolgen gemäß 5.6.1 und 5.9.1 dieser Regel

GC-Verfahren

Als interner Standard ist den Serum/Plasma-Proben eine Substanz zuzusetzen, die üblicherweise nicht im Serum/Plasma vorkommt. Interferenzen mit im Serum/Plasma üblicherweise vorkommenden Substanzen sind auszuschließen. Tertiär-Butanol hat sich als interner Standard bewährt. Bei massenspektrometrischer Detektion ist deuteriertes Ethanol (Wasserstoff/Deuteriumaustausch größer 2, kein Deuterium am Sauerstoff) zu verwenden.

Zwei differente GC-Verfahren liegen vor, wenn folgende Kriterien erfüllt sind:

- Zwei Gerätesysteme mit vergleichbaren Detektoren (z.B. Flammenionisationsdetektoren), aber zwei unterschiedlich polaren Säulen, die gewährleisten, dass die relativen Retentionszeiten des Ethanols und des internen Standards der beiden Verfahren unterschiedlich sind. Interferenzen mit möglicherweise zu erwartenden weiteren Stoffen sind im Rahmen einer Validierung auszuschließen (insbesondere Begleitalkohole und endogene flüchtige Stoffe wie z.B. Ketone).
- Zwei Gerätesysteme und zwei verschiedene Detektoren (z.B. Flammenionisationsdetektor und Massenspektrometer bei Aufzeichnung von mindestens 2 Ionen)

ADH-Verfahren

Die enzymatische Bestimmung der Alkoholkonzentration im Blut erfolgt mit einem im jeweiligen Labor etablierten Verfahren. Ist die Durchführung einer Eiweißfällung erforderlich (Bestimmung aus Vollblut, hämolytischem Serum/Plasma), ist diese zweifach in getrennten Arbeitsschritten in gleicher Weise vorzunehmen. Mehrfachanalysen aus nur einer enteiweißten Probe sind unzulässig. Es muss sichergestellt werden, dass keine Verdunstungseffekte entstehen. Ferner ist bei einer Methode mit Eiweißfällung eine eigene Validierung vorzunehmen.

Zu 5.4.6.2

Es ist ein Verfahren über die Schätzung der Messunsicherheit einzuführen und anzuwenden. Das Verfahren kann nach den Richtlinien der GTFCh durchgeführt werden.

Zu 5.6. Messtechnische Rückführung

Zu 5.6.1

Für die Kalibrierung werden wässrige Ethanolösungen verwendet, deren Gehalt vom Hersteller garantiert sein muss. Es sind mindestens fünf Kalibrierkonzentrationen in Einfach- oder Mehrfachbestimmung einzusetzen, wobei zumindest $\leq 0,20$; 1,00; 2,00 und 3,00 g Ethanol pro L enthalten sein müssen. Beim GC-Verfahren ist, im Gegensatz zum ADH-Verfahren, der Leerwert kein Kalibrationspunkt. Für enteweißte Proben beim ADH-Verfahren hat die Kalibration mit gleichartig behandelten wässrigen Standards zu erfolgen.

Die Kalibration ist in jeder Analysenserie neu durchzuführen, es sei denn die Qualitätskontrollen (niedrig, mittel, hoch, siehe 5.9.1) liegen innerhalb der Spezifikationen. In diesem Fall kann auch auf die bestehende Kalibration zurückgegriffen werden.

Werden bei authentischen Proben Werte oberhalb des höchsten Kalibrationspunktes erhalten, muss ein Verfahren etabliert sein, mit dem der Messwert über eine Verdünnung bestimmt wird. Die Verdünnung (z.B. mit isotonischer Kochsalzlösung) hat ggf. für beide Verfahren unabhängig voneinander zu erfolgen.

Zu 5.7. Probenahme

Auftraggeber sind Gerichte, Behörden, Institutionen oder Privatpersonen. Die Blutproben können gemäß einschlägiger Bestimmungen der Strafprozessordnung oder der Zivilprozessordnung abgenommen oder nach entsprechender Aufklärung freiwillig abgegeben werden.

Zu 5.8. Handhabung von Prüf- und Kalibriergegenständen

Zu 5.8.1/5.8.2/5.8.3/5.8.4

Das Untersuchungsmaterial ist grundsätzlich als infektiös zu betrachten. Auf die Einhaltung der Hygienevorschriften ist zu achten.

Der Tag des Probeneingangs ist zu dokumentieren. Das Auspacken der Blutproben hat durch zwei befugte Personen zu erfolgen. Darüber ist ein Protokoll zu führen. Mängel der Proben, der Verpackung, der Beschriftungen und/oder der Begleitpapiere sind sorgfältig zu dokumentieren. Die Übereinstimmung der Beschriftungen auf den Blutproben mit den Begleitpapieren ist unmittelbar zu prüfen. Die Identitätsbezeichnungen des Auftraggebers und die ggf. zugesandten Klebeetiketten sind bestimmungsgemäß zu verwenden. Zusätzlich kann ein laborinternes Probenidentifizierungssystem angewendet werden.

Das Untersuchungsmaterial ist nach jeder Probenentnahme für die Analysen jeweils sofort wieder zu verschließen. Der Zusatz von Stoffen jeglicher Art zur Primärprobe ist nach Laboreingang nicht zulässig. Blutproben sind umgehend in einer Kühleinrichtung bei ca. 4 °C einzulagern. Für Nachbestim-

mungen oder evtl. Begleitstoffanalysen sollte nach Beendigung der Analyse Serum/Plasma von der übrigen Restprobe getrennt werden und bei höchstens -15 °C aufbewahrt werden. Ein solcher Arbeitsgang, einschließlich Beschriftung, ist im Beisein einer zweiten Person durchzuführen und zu kontrollieren (inkl. Dokumentation). Die Original- und möglicherweise abgetrennten Proben sind jeweils mindestens 2 Jahre aufzubewahren, sofern rechtswirksame Anordnungen keine anderen Zeiten vorgeben. Die Gewahrsampflicht obliegt dem/der verantwortlichen Laborleiter/in.

Zu 5.9 Sicherung der Qualität von Prüf- und Kalibrierergebnissen

Zu 5.9.1/5.9.2

Für die laborinterne Qualitätskontrolle sind geeignete Serum/Plasmaproben zu verwenden. Dies sind zertifizierte Kontrollproben bzw. Proben, deren Referenzkonzentration und Vertrauensbereich vom Hersteller garantiert sind. Der Vertrauensbereich darf die maximal zulässigen Abweichungen (Beschreibung s.u.) nicht überschreiten und ist bei der Blutalkoholbestimmung für forensische Zwecke ggf. vom Labor selbst einzuschränken. Die Kontrollproben sollen die Variabilität der Matrix der Originalproben widerspiegeln, weshalb Proben möglichst verschiedener Hersteller als Kontrollen eingesetzt werden sollen. Selbst hergestellte Proben sind zur Qualitätskontrolle der Alkoholbestimmung ungeeignet.

Je Untersuchungstag bzw. in jeder Serie sind mindestens je eine Negativkontrolle und zwei verschiedene Positivkontrollen (jeweils in Doppelbestimmung) mitzuführen. Erforderlich sind eine Kontrollprobe bei niedriger Konzentration ($\leq 0,50$ g/L Serum bzw. $\leq 0,40$ g/kg Vollblut) und mindestens von Serie zu Serie abwechselnd eine weitere im mittleren ($0,50 - 1,60$ g/L Serum bzw. $0,40 - 1,29$ g/kg Vollblut) bzw. im hohen Konzentrationsbereich ($\geq 3,0$ g/L bzw. $\geq 2,43$ g/kg Vollblut).

In jeder Analysenserie werden nach je mindestens 10 authentischen Proben (20 Einzelbestimmungen) Kontrollproben eingefügt. Grundsätzlich hat die Sequenz mit einer Kontrollprobe abzuschließen.

Alle Qualitätskontrollen sind zu prüfen und zu dokumentieren. Es ist eine Kontrollkarte mit zwei Messwerten je Verfahren zu führen, in der die einzelnen Messwerte beider Verfahren zu überprüfen sind. Pro Analysenserie ist mindestens ein Wertepaar pro Konzentration und Verfahren einzutragen. Es muss jedoch zuvor festgelegt werden, welche Kontrolle eingetragen wird.

In die Kontrollkarten werden die Sollkonzentration (Zentrallinie) und die maximal zulässigen Abweichungen eingetragen. Als zulässige Abweichung eines Messwertes von einer Sollkonzentration $\leq 1,000$ g/kg Vollblut bzw. $1,236$ g/L Serum gelten maximal $\pm 0,05$ g/kg ($0,062$ g/L), von einer Sollkonzentration $> 1,000$ g/kg Vollblut bzw. $1,236$ g/L Serum maximal $\pm 5\%$.

Werden die Vorgaben überschritten, so müssen die Ursache festgestellt, Korrekturmaßnahmen ergriffen und ggf. die gesamte Untersuchungsserie einschließlich Kontrollmaßnahmen wiederholt werden. Auf dem Befundbericht dürfen in diesen Fällen für die Berechnung der Blutalkoholkonzentration ausschließlich die Konzentrationen aus der Wiederholungsserie verwendet werden.

Zur externen Qualitätskontrolle ist pro Jahr an mindestens vier Ringversuchen teilzunehmen, die nach forensischen Gesichtspunkten durchgeführt werden und den forensisch relevanten Arbeitsbereich abdecken. Die Ringversuchsproben sind entsprechend Ziffer 5 in gleicher Weise zu messen wie die Routineproben, weshalb die Matrix aus Serum/Plasma bestehen sollte. Es muss immer ein gültiges Zertifikat vorliegen.

Die berechneten Vollblutalkoholkonzentrationen sind stets hinter der zweiten Stelle nach dem Komma zu schneiden. Aus den so ermittelten vier Einzelkonzentrationen wird das arithmetische Mittel errechnet und ebenfalls auf zwei Stellen hinter dem Komma geschnitten. Die Messwertspanne der Messwerte der beiden Verfahren ist zu überprüfen: Für Analysenmittelwerte $\leq 1,000$ g/kg Vollblut bzw. 1,236 g/L Serum ist eine maximale Differenz zwischen dem höchsten und niedrigsten Einzelergebnis von 0,100 g/kg (0,124 g/L) zulässig. Bei Analysenmittelwerten $> 1,000$ g/kg Vollblut bzw. 1,236 g/L Serum beträgt die maximale Spannweite 10%.

Zu 5.10 Ergebnisberichte

Zu 5.10.1

Es gelten die Ausführungen gemäß ISO 17025 und der Allgemeinen Regel zur Umsetzung der ISO 17025 für forensische Laboratorien.

Das Untersuchungsergebnis ist gemäß 5.9.1 zu berechnen und in die Befundmitteilung einzutragen, wobei zusätzlich sämtliche 4 Einzelwerte anzugeben und die eingesetzten Methoden genau zu bezeichnen sind.

4 Mitgeltende Unterlagen

- 71 SD 3 004: Allgemeine Regel zur Umsetzung der ISO 17025 für forensische Laboratorien (Deutsche Übersetzung des ILAC Guidelines for Forensic Laboratories)
- 71 SD 3 014: Gremienbeschlüsse für den Bereich Forensische Medizin, Toxikologie, Biologie
- EURACHEM/CITAC. Ermittlung der Messunsicherheit bei analytischen Messungen ([http://www.eurolab-d.bam.de/eurachem_dokumente/Ermittlung der Messunsicherheit bei analytischen Messungen,.pdf](http://www.eurolab-d.bam.de/eurachem_dokumente/Ermittlung_der_Messunsicherheit_bei_analytischen_Messungen,.pdf))
- ILAC G19:2002 „Guidelines for Forensic Science Laboratories“
- DIN EN ISO/IEC 17025 „Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien“
- Aderjan R., Daldrup T., Käferstein H., Krause D. †, Mußhoff F., Paul L.D., Peters F., Rochholz G., Schmitt G., Skopp G. (2011) Richtlinien zur Bestimmung der Blutalkoholkonzentration (BAK) für forensische Zwecke (BAK-Richtlinie), herausgegeben von der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, der Deutschen Gesellschaft für Verkehrsmedizin und der Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie. Blutalkohol 48, 137-143
- Richtlinie der GTFCh zur Qualitätssicherung bei forensisch-toxikologischen Untersuchungen (2009) Toxichem Krimtech 76, 142-174
[https://www.gtfch.org/cms/files/GTFCh_Richtlinie_For-Tox_Version%201.pdf]
- Richtlinie der GTFCh zur Qualitätssicherung bei forensisch-toxikologischen Untersuchungen Anhang B: Anforderungen an die Validierung von Analysenmethoden (2009) Toxichem Krimtech 76 (3), 185-208
[https://www.gtfch.org/cms/files/GTFCh_Richtlinie_Anhang%20B_Validierung_Version%201.pdf]
- Schmitt G, Aderjan R (2004) Blutalkoholbestimmung – Validierung und Ermittlung der Messunsicherheit gemäß internationalen Standards. Blutalkohol 41, 299 – 318
- G. Schmitt, M. Herbold, F.T. Peters, S.W. Toennes (2008) Excel-Formular zur Berechnung der Messunsicherheit (Version 1.6, vgl. T+K (2008) 75 (1):12)
[<http://www.gtfch.org/cms/index.php/news/366-messunsicherheit>]