

Spezielle Regeln für forensisch-chemische Untersuchungen von Betäubungsmitteln (Suchtstoffen)

71 SD 3 013 | Revision: 1.1 | 31. Oktober 2014

Geltungsbereich:

Diese Regel legt Anforderungen zur Akkreditierung von Prüflaboratorien fest, die forensisch-chemische Untersuchungen von Betäubungsmitteln (Suchtstoffen) durchführen. Sie basiert auf den Richtlinien zur Qualitätssicherung bei forensisch-chemischen Untersuchungen von Betäubungs- und Arzneimitteln" der KKWT/ED zugleich publiziert am 01.04.2012 als Richtlinie der Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie (GTFCh) (<http://www.gtfch.org/cms/index.php/richtlinien>), dem „Allgemeinen Leitfaden zur Umsetzung der ISO 17025 für forensische Laboratorien“ (71 SD 3 004) sowie der DIN EN ISO/IEC 17025 „Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien“ (kurz: ISO 17025).

In den vorliegenden speziellen Regeln werden bestimmte Anforderungen des Allgemeiner Leitfaden zur Umsetzung der ISO 17025 für forensische Laboratorien (71 SD 3 004) und der ISO 17025 konkretisiert. Zu jedem Abschnitt gelten zusätzlich immer die Anforderungen des allgemeinen Leitfadens und/oder der ISO 17025.

Datum der Bestätigung durch den Akkreditierungsbeirat: 28.02.2015

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	4
2	Begriffe.....	4
3	Allgemeines	4
4	Anforderungen an das Management.....	5
4.1	Managementsystem	5
4.2	Lenkung von Dokumenten und Aufzeichnungen	6
5	Technische Anforderungen	7
5.1	Personal	7
5.2	Räumliche Voraussetzungen und Umgebungsbedingungen	8
5.3	Apparative Voraussetzungen	9
5.4	Maßnahmen zur Labor- und Gerätesicherheit	9
5.5	Anforderungen an das Untersuchungsmaterial und dessen Handhabung	9
5.5.1	Sicherstellung und Transport von Untersuchungsmaterial	9
5.5.2	Eingang des Untersuchungsmaterials	10
5.5.3	Aufbewahrung des Untersuchungsmaterials und der Proben.....	10
5.5.4	Probenvorbereitung.....	11
6	Prüf- und Kalibrierverfahren und deren Validierung	11
6.1	Allgemeines zur Substanzidentifizierung und -quantifizierung	11
6.2	Überwachung der Waagen	13
6.2.1	Eichung.....	13
6.2.2	Rückführung.....	13
6.2.3	Ermittlung der Mindestlast	14
6.2.4	Prüfintervalle mit Prüfgewichten.....	15
6.2.5	Festlegung von Warn- und Eingreifgrenzen.....	15
6.3	Überprüfung von Volumenmessgeräten	15
6.4	Handhabung von Referenzmaterialien	15
6.4.1	Lagerung und Kennzeichnung.....	16
6.4.2	Prüfung und Haltbarkeit der Referenzmaterialien	16
6.5	Nasschemische Farbvortests und Nachweisreaktionen	17
6.6	Dünnschichtchromatographie (DC)	17
6.6.1	Durchführung.....	18

6.6.2	Auswertung	18
6.7	Infrarotspektrometrie (IR)	18
6.7.1	Funktionskontrolle der Infrarotspektrometrie	19
6.7.2	Durchführung	19
6.7.3	Auswertung	20
6.8	Gaschromatographie (GC) (ISO 17025 Abschnitt 5.4)	21
6.8.1	Funktionskontrollen	22
6.8.2	Kalibration	22
6.8.3	Messreihen und laborinterne Qualitätssicherung	22
6.8.4	Externe QC-Proben	23
6.8.5	Kontrollkarten	23
6.8.6	Ergebnisangabe	23
6.8.7	Messunsicherheit	23
6.9	Flüssigchromatographie (LC)	23
6.10	Massenspektrometrie (MS) (ISO 17025 Abschnitt 5.4)	25
6.10.1	Funktionskontrolle	25
6.10.2	Ionisierungstechniken	25
6.10.3	Nachweiskriterien bei MS-Detektion	26
7	Maßnahmen zur Ergebnissicherheit (interne und externe Qualitätskontrolle)	29
7.1	Interne Qualitätskontrolle	29
7.2	Externe Qualitätskontrollen	29
7.3	Validierung von Untersuchungsmethoden	30
7.3.1	Qualitative Untersuchungsmethoden	30
7.3.2	Quantitative Untersuchungsmethoden bei chromatographischen Verfahren	31
8	Mitgeltende Unterlagen/Literaturverzeichnis	34

1 Zweck / Geltungsbereich

Diese Regel legt Anforderungen zur Akkreditierung von Prüflaboratorien fest, die forensisch-chemische Untersuchungen von Betäubungsmitteln (Suchtstoffen) durchführen. Sie basiert auf den Richtlinien zur Qualitätssicherung bei forensisch-chemischen Untersuchungen von Betäubungs- und Arzneimitteln" der KKWT/ED zugleich publiziert am 01.04.2012 als Richtlinie der Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie (GTFCh) (<http://www.gtfch.org/cms/index.php/richtlinien>), dem „Allgemeinen Leitfaden zur Umsetzung der ISO 17025 für forensische Laboratorien“ (71 SD 3 004) sowie der DIN EN ISO/IEC 17025 „Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien“ (kurz: ISO 17025).

In den vorliegenden speziellen Regeln werden bestimmte Anforderungen des Allgemeiner Leitfaden zur Umsetzung der ISO 17025 für forensische Laboratorien (71 SD 3 004) und der ISO 17025 konkretisiert. Zu jedem Abschnitt gelten zusätzlich immer die Anforderungen des allgemeinen Leitfadens und/oder der ISO 17025.

Diese Regel gilt insbesondere für:

- forensisch-chemische Identifizierung und Quantifizierung von Betäubungsmitteln, Begleit- und Verschnittstoffen in festen und flüssigen Substanzproben, pflanzlichem Material und Pilzen inklusive Probennahme (Anhang A)
- forensisch-chemische Identifizierung von Betäubungsmitteln und deren Zubereitungen im Spurenbereich (z. B. an Saug- und Wischproben oder Rauschgiftutensilien) (Anhang B)
- forensisch-chemische Identifizierung und Quantifizierung von Arzneimitteln in festen und flüssigen Substanzproben sowie pflanzlichem Material inklusive Probennahme (Anhang C)

2 Begriffe

Siehe ISO 17025 und Allgemeiner Leitfaden zur Umsetzung der ISO 17025 für forensische Laboratorien.

3 Allgemeines

Forensisch-chemische Untersuchungen zum qualitativen Nachweis und zur quantitativen Bestimmung von Betäubungsmitteln, Arzneistoffen und sonstigen Suchtmitteln werden insbesondere im Rahmen von Ermittlungs- und Strafverfahren durchgeführt.

Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüflaboratorien finden sich als Grundlage zur Akkreditierung in der jeweils gültigen Fassung der ISO 17025, Anforderungen an Inspektionsstellen in

der DIN EN ISO/IEC 17020 (ISO 17020). Es ist grundsätzlich möglich, ein forensisches Labor¹ nach ISO 17025 oder auch in Form eines integrierten Systems (ISO 17025/ISO 17020) zu akkreditieren². Dabei geht es im Einzelfall um die Frage, wie groß der bewertende Anteil (Sachverständigenmeinung) im Verhältnis zum prüfenden Anteil in dem betreffenden Labor ist. Der Schwerpunkt dieser speziellen Regeln liegt auf dem prüfenden Anteil der durch die ISO 17025 abgedeckt ist.

Die in diesen speziellen Regeln bezeichneten Qualitätsstandards gelten, sobald Laboratorien Befunde erheben, die für rechtliche Verfahren gültig sein sollen. Die Ergebnisse der Untersuchungen müssen mit beweistauglichen speziellen Methoden gesichert und der hierzu erforderliche Standard durch regelmäßige interne und externe Qualitätskontrollen gewährleistet werden.

Diese Regel gilt insbesondere für:

- forensisch-chemische Identifizierung und Quantifizierung von Betäubungsmitteln, Begleit- und Verschnittstoffen in festen und flüssigen Substanzproben, pflanzlichem Material und Pilzen inklusive Probennahme (Anhang A)
- forensisch-chemische Identifizierung von Betäubungsmitteln und deren Zubereitungen im Spurenbereich (z. B. an Saug- und Wischproben oder Rauschgiftutensilien) (Anhang B)
- forensisch-chemische Identifizierung und Quantifizierung von Arzneimitteln in festen und flüssigen Substanzproben sowie pflanzlichem Material inklusive Probennahme (Anhang C)

4 Anforderungen an das Management

4.1 Managementsystem

Die Maßnahmen der Qualitätssicherung sind im Rahmen eines Qualitätsmanagementsystems (QMS) festzulegen und umzusetzen. Dieses muss Zielsetzungen, Aufgabenbereiche, Verantwortlichkeiten, Zuständigkeiten und Verfahrensabläufe eines Labors beinhalten. Aufgabenbereiche müssen definiert, Verantwortlichkeiten und Zuständigkeiten erfasst, aufeinander abgestimmt, festgelegt sowie aus einem Organigramm ersichtlich sein. Die Laboratorien müssen gewährleisten, dass Analysen nach dem aktuellen und anerkannten Stand der Analysetechnik ausgeführt werden.

Die Analysemethoden müssen in schriftlicher Form vorliegen (Verfahrensanweisungen, Arbeits-

¹ Unter dem Begriff „Labor/Laboratorium“ wird im Folgenden eine Organisationseinheit (z. Bsp. Fachbereich, Arbeitsgruppe) verstanden, in der die im Geltungsbereich genannten Untersuchungen durchgeführt werden.

² Die Akkreditierung nach ISO 17025 und ISO 17020 erfolgt in separaten Verfahren und es werden separate Urkunden und Urkundenanlagen ausgestellt. Ein forensisches Labor kann ein integriertes Managementsystem betreiben und gemeinsam bezüglich der Anforderungen der ISO 17025 und ISO 17020 durch die DAkKS begutachtet werden.

anweisungen). Grundsätzlich ist es dem Labor freigestellt, welche Methoden eingesetzt werden. Es muss jedoch gewährleistet sein, dass das Ergebnis zuverlässig ist.

4.2 Lenkung von Dokumenten und Aufzeichnungen

Die Untersuchungsaufträge, Begleitprotokolle und alle Unterlagen, wie Auswertungen von Messergebnissen oder Analysen, Messprotokolle, Kalibrationen, Chromatogramme, Spektren, Analysenberichte sowie die Analysenvorschriften der Untersuchung und Prüfberichte (an externe) müssen vollständig gesammelt und so dokumentiert werden, dass sie jederzeit einer/einem vom Gericht beauftragten Gutachterin/Gutachter vorgelegt werden können. Anhand der Unterlagen müssen die korrekte Durchführung der Analysen und die daraus abgeleitete Begutachtung nachvollziehbar sein. Es muss nachvollziehbar sein, welche Person(en) die Untersuchung durchgeführt hat/haben und welcher Gutachter für deren Vertretung nach außen verantwortlich ist. Die Dokumentation kann auch elektronisch erfolgen, sofern sichergestellt ist, dass über den entsprechenden Aufbewahrungszeitraum darauf zurückgegriffen werden kann. Der Laborleiter bzw. der Qualitätsmanagementbeauftragte sorgt für die Schulung des Personals zur korrekten Ausführung der Dokumentation.

Die Dokumente/Aufzeichnungen sind gemäß den jeweils geltenden Verwaltungsvorschriften aufzubewahren.

Dem Auftraggeber ist über das Ergebnis der Untersuchungen ein Prüfbericht (z. B. Gutachten/ Untersuchungsbericht/) zu erstellen. Der Prüfbericht wird entsprechend der Fragestellung gestaltet. Im Falle von forensisch-chemischen Untersuchungen an Substanzproben handelt es sich in der Regel um Behördengutachten gemäß § 256 StPO.

Im Prüfbericht sind die nach ISO 17025 Kap. 5.10.2 erforderlichen Kopfdaten anzugeben. Dazu gehören z. B. Datum des Eingangs des Untersuchungsmaterials und der Bearbeitungszeitraum, sofern es für die Gültigkeit und die Anwendung der Ergebnisse bedeutsam ist.

Der Name und die Stellung der Person, die für die Untersuchung und die Vertretung nach außen verantwortlich ist (Sachverständige), müssen angegeben sein. Der Unterzeichner muss für die Untersuchungen im Rahmen des Geltungsbereichs dieser speziellen Regeln qualifiziert sein und über ein abgeschlossenes naturwissenschaftliches Hochschulstudium (Chemie, Lebensmittelchemie, Pharmazie, Biochemie oder verwandter Fachrichtungen) mit Abschluss Master oder gleichwertig (z.B. Diplom- oder Staatsexamen), sowie die Berechtigung zur eigenverantwortlichen Unterzeichnung von Prüfberichten verfügen. Zum Nachweis der Fähigkeit zum eigenständigen wissenschaftlichen Arbeiten ist eine Promotion zum Vorteil.

Die eingesetzten Analysemethoden sind anzugeben. Abweichungen vom Untersuchungsauftrag sind zu begründen (z. B. nicht geeignetes Untersuchungsmaterial, nicht fachgerechte Asservierung, Kontamination). Der Laborleiter ist verantwortlich dafür, dass sämtliche vom Labor verwendeten methodischen Vorschriften, u. a. Arbeitsanweisungen und Verfahrensanweisungen für alle wichtigen

Abläufe im Labor, im Rahmen des Qualitätsmanagements schriftlich niedergelegt werden.

Die Vorschriften müssen anerkannten Qualitätskriterien entsprechen und geprüft sein. Methodische Vorschriften müssen so ausgearbeitet und beschrieben sein, dass das technische Personal nach entsprechender Einweisung nach diesen arbeiten kann. Jede Änderung von Vorschriften ist zu dokumentieren. Es muss sichergestellt sein, dass genau nach den niedergelegten Vorschriften gearbeitet wird. Die Methoden müssen validiert sein. Das Ergebnis der Validierung ist zu dokumentieren.

5 Technische Anforderungen

5.1 Personal

Der Leiter eines Labors, in dem die bezeichneten Untersuchungen durchgeführt werden, muss ein abgeschlossenes naturwissenschaftliches Hochschulstudium (Chemie, Lebensmittelchemie, Pharmazie, Biochemie oder verwandter Fachrichtungen) mit Abschluss Master oder gleichwertig (z.B. Diplom- oder Staatsexamen) möglichst mit Promotion nachweisen.

Der Leiter bzw. dessen Stellvertreter muss eine Überwachung aller Tätigkeiten inklusive Überwachung und Durchführung von analytischen Qualitätssicherungsmaßnahmen gewährleisten. Vertretungsregelungen und Zuständigkeiten sind im Rahmen eines Qualitätsmanagementsystems festzulegen. Durch den Leiter des Labors oder dessen Stellvertreter muss zusätzlich eine regelmäßige fachbezogene Fortbildung für alle Mitarbeiter erfolgen bzw. veranlasst werden.

Der Sachverständige muss ein abgeschlossenes naturwissenschaftliches Hochschulstudium (Chemie, Lebensmittelchemie, Pharmazie, Biochemie oder verwandter Fachrichtungen) mit Abschluss Master oder gleichwertig (z.B. Diplom- oder Staatsexamen) möglichst mit Promotion sowie eine entsprechende forensisch-toxikologische bzw. forensisch-chemische Erfahrung besitzen.

Die geforderte Kompetenz ist beim Vorliegen folgender Kriterien anzunehmen:

- Bei Berufsanfängern ohne Berufserfahrung: mindestens zwölfmonatige praktische Tätigkeit in einem forensisch-chemischen Labor für die vollumfängliche Zeichnungsbefugnis in einem Aufgabengebiet des Geltungsbereichs
- Bei Mitarbeitern mit mindestens dreijähriger einschlägiger wissenschaftlicher Berufserfahrung: sechsmonatige praktische Tätigkeit im forensisch-chemischen Labor für die vollumfängliche Zeichnungsbefugnis in einem Aufgabengebiet des Geltungsbereichs
- Besuch von einschlägigen Fortbildungen
- Kenntnis der rechtlichen Bestimmungen, die für das Aufgabengebiet des Geltungsbereichs relevant sind
- Kenntnisse über Möglichkeiten und Grenzen der eingesetzten analytischen Verfahren

- Stoffkenntnisse über relevante Drogen/Gifte und Arzneimittel
- Spezielle Kenntnisse zur Suche und Sicherung von toxikologisch relevantem Spurenmaterial
- Kenntnisse im Einsatz von Vortests und ggf. mobiler instrumenteller Analytik
- Fähigkeit zur Erarbeitung von fallbezogenen zweckmäßigen Untersuchungsplänen, auch in Abstimmung mit anderen forensischen Disziplinen, Fähigkeit zur spurenübergreifenden Befundbewertung
- Beherrschung bzw. Kenntnisse der gängigen chemisch-analytischen Untersuchungstechniken, einschließlich der Interpretation der Analyseergebnisse

Der Sachverständige ggfs. der Leiter eines Labors muss, sofern er als Sachverständiger tätig ist, entsprechende Fortbildungen nachweisen. Es hat eine regelmäßige und zweckgebundene Fortbildung der Sachverständigen sowie die Überwachung der Wirksamkeit der Fortbildungsmaßnahmen zu erfolgen.

Beim technischen Personal wird eine qualifizierte Berufsausbildung auf dem Gebiet der Labortätigkeit vorausgesetzt. Es hat eine zweckgebundene Fortbildung des technischen Personals sowie die Überwachung der Wirksamkeit der Fortbildungsmaßnahmen zu erfolgen.

Alle im Labor tätigen Personen sind über die Schweigepflicht zu belehren. Diese Belehrung ist schriftlich niederzulegen.

5.2 Räumliche Voraussetzungen und Umgebungsbedingungen

Die Laborräume müssen so beschaffen sein, dass Unbefugte keinen Zugang haben. Nichtautorisierte Personen dürfen sich nur in Begleitung von autorisiertem Personal in den Laborräumen aufhalten. Die Laborfläche muss genügend groß sein, um eine geeignete Laborausrüstung zur eindeutigen Identifizierung und quantitativen Bestimmung einzelner Substanzen unterbringen zu können. Untersuchungen von Substanzproben, biologischem Material (Blut, Urin, Haare) und nicht sichtbaren Substanzanhaftungen (Anhang B) müssen in getrennten Laborräumen aufgearbeitet werden, um Kontaminationen zu vermeiden. Biologisches Material und nicht sichtbare Substanzanhaftungen können in einem Labor mit getrennten Laborbereichen bearbeitet werden.

Im Fall von Betäubungsmitteln bzw. rauschgiftverdächtigen Proben ist zu prüfen, ob eine Erlaubnis für den Betäubungsmittelverkehr der Bundesopiumstelle des Bundesinstituts für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) vorliegt und die gegebenenfalls darin genannte Höchstmenge nicht überschritten wird. Weiterhin müssen die Lagerungsmöglichkeiten den Erfordernissen der Richtlinie des Bundesinstituts für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM – Bundesopiumstelle) entsprechen und die Betäubungsmittel vor unbefugtem Zugriff geschützt sein.

5.3 Apparative Voraussetzungen

In einem forensisch-chemischen Labor müssen Geräte vorhanden sein, die eine eindeutige Identifizierung und Quantifizierung von Substanzen sowie bei Erfordernis einen beweisheblichen Vergleich komplexer Stoffgemische erlauben (qualitative, quantitative und vergleichende Analyse).

Die derzeit erforderliche Ausrüstung umfasst neben der Grundausstattung eines analytischen Labors in der Regel Geräte für Gaschromatographie mit speziellen Detektoren, wie stickstoffspezifischer Detektor, Elektroneneinfang-, Flammenionisationsdetektor oder Massenspektrometer, Flüssigchromatographie mit speziellen Detektoren wie Diodenarray-, UV-, Fluoreszenz- Detektor oder Massenspektrometer, Fourier-Transform-Spektralphotometrie im Bereich Infrarot/Nahinfrarot (IR/NIR), Mikroskopie, Dünnschichtchromatographie, Gewichtsbestimmungen (eichfähige Waagen).

Andere Verfahren oder Geräte, die gleichwertige Ergebnisse liefern, können eingesetzt werden, z.B. IC, CE, NMR, XRD, UV.

5.4 Maßnahmen zur Labor- und Gerätesicherheit

Für Laborarbeiten eingesetzte Geräte müssen in funktionstüchtigem Zustand gehalten, regelmäßig gewartet bzw. kalibriert werden und - sofern vorgeschrieben - geeicht werden. Die Betriebsanweisungen der Hersteller sind zu beachten. Es müssen Gerätehandbücher zur Nutzung und Wartung geführt werden.

Die jeweils gültigen Arbeitssicherheitsvorschriften für das Arbeiten im Labor sind einzuhalten.

Eine besondere Einweisung des technischen Personals über den Umgang mit Gefahrstoffen (z. B. infektiöses Material, Betäubungsmittel, Chemikalien) und deren sachgerechter Entsorgung ist notwendig. Belehrungen über das Arbeiten im Labor müssen regelmäßig erfolgen und dokumentiert werden.

5.5 Anforderungen an das Untersuchungsmaterial und dessen Handhabung

5.5.1 Sicherstellung und Transport von Untersuchungsmaterial

Soweit es nicht durch entsprechende Vorschriften (z. B. entsprechende Verwaltungsvorschriften der jeweiligen Bundesländer) geregelt oder im Rahmen dieser speziellen Regeln anders empfohlen ist, teilt das Untersuchungslabor auf Nachfrage dem Auftraggeber Art, Menge, Lagerungs- und Transportbedingungen des für die Fragestellung erforderlichen Untersuchungsmaterials mit, damit eine ordnungsgemäße Untersuchung gewährleistet ist.

Der Auftraggeber hat auf eine eindeutige und vollständige Kennzeichnung des Untersuchungsmaterials und des Untersuchungsauftrages zu achten. Im Untersuchungsauftrag sollen die Art des Untersuchungsmaterials, die gewünschte Untersuchung mit Fragestellung und Vorgeschichte und Datum sowie gegebenenfalls die Uhrzeit der Sicherstellung angegeben werden.

Die Verpackung muss für das entsprechende Untersuchungsmaterial geeignet sein. Für den Transport muss das Untersuchungsmaterial sachgerecht verpackt und verschlossen sein. Die Schnelligkeit des Transportes und eventuelle besondere Transportbedingungen (z. B. Tiefkühlung) werden durch die Fragestellung der angeforderten Untersuchung bestimmt.

5.5.2 Eingang des Untersuchungsmaterials

Sämtliche eingehenden Aufträge und Untersuchungsmaterialien sind durch die Untersuchungsstelle zu registrieren. Die Untersuchungsmaterialien werden auf Vollständigkeit, Unversehrtheit und gegebenenfalls auf Tauglichkeit zur Untersuchung geprüft. Der Umgang mit unbeschrifteten oder mangelhaft bezeichneten Untersuchungsmaterialien ist im Rahmen des Qualitätsmanagementsystems zu regeln. Jeder Auftrag und alle dazugehörigen Untersuchungsmaterialien werden einem laborinternen Code zugeordnet und somit eindeutig gekennzeichnet (gegebenenfalls durch einen Barcode). Eine Verwechslung des Untersuchungsmaterials im Labor muss ausgeschlossen sein. Die Bestimmungen des Datenschutzgesetzes müssen beachtet werden.

Das Labor informiert den Auftraggeber, wenn das Untersuchungsmaterial für die gewünschte Untersuchung oder Fragestellung ungeeignet bzw. die Menge zu gering ist oder der Auftrag von diesem Labor nicht durchgeführt werden kann.

Ist dem Untersuchungsauftrag zu entnehmen, dass z. B. molekulargenetische, faserkundliche und andere spurenkundliche Untersuchungen notwendig sein könnten oder Probleme der Lagerung entstehen können, sind, soweit nicht bereits intern geregelt, die Zuständigen der jeweiligen Fachrichtungen zu konsultieren.

5.5.3 Aufbewahrung des Untersuchungsmaterials und der Proben

Es sind Maßnahmen zu treffen, damit Unbefugte keinen Zugang zu den Untersuchungsmaterialien und Proben³ haben und diese nicht entwendet, verfälscht oder manipuliert werden können.

Die Identität der Probe, der daraus durch Aufarbeitung erhaltenen Folgeprodukte (z. B. Extrakte) oder repräsentativen Teilmengen (z. B. Teilhomogenisate) muss durch korrekte Kennzeichnung sichergestellt sein. Bei jedem Analysengang muss sich die/der mit dem Probenmaterial tätige Bearbeiter(in) bei Anfertigung von Arbeitslisten oder Ergebnisprotokollen von der korrekten Übertragung der internen Kennzeichnung des Untersuchungsmaterials überzeugen. Aus der Dokumentation muss hervorgehen, welche Personen an den jeweiligen Untersuchungsgängen beteiligt waren.

Die nach Durchführung der Untersuchungen verbliebenen Proben sind nach der Anfertigung des Prüfberichtes entsprechend der jeweiligen Verwaltungsvorschrift an die zuständige Stelle zu senden oder aufzubewahren. Hierbei ist zu prüfen, ob die Lagerung den Erfordernissen der Bundesopium-

³ Unter Probe wird im Folgenden verstanden: in der Untersuchungsstelle bearbeitetes (z. B. getrocknetes, homogenisiertes, geteiltes) Untersuchungsmaterial, Extrakte und Analysenproben.

stelle des Bundesinstitutes für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) entspricht. Der Verbleib des Untersuchungsmaterials nach Abschluss der Untersuchungen ist zu dokumentieren.

5.5.4 Probenvorbereitung

Unabhängig vom Umfang der internen und externen Qualitätssicherung und der für die Untersuchung verwendeten instrumentellen Analytik steht am Anfang jeder Analyse die Probennahme.

In deutschen und auch in internationalen Richtlinien ist die Durchführung der Probennahme bei Betäubungsmitteln beschrieben [z. B. in Anhang A ‚Probennahme bei forensisch-chemischen Untersuchungen von Betäubungsmitteln‘ zur "Richtlinie zur Qualitätssicherung bei forensisch-chemischen Untersuchungen von Betäubungs- und Arzneimitteln"].

Es muss gewährleistet sein, dass die Untersuchung die Probe in ihrer Gesamtheit erfasst. Die Bund/Länder-Projektgruppe "Probengewinnung" hat einen Leitfaden (Anhang A) erstellt, der eine einheitliche Vorgehensweise für den Regelfall beschreibt und als Mindestanforderung gilt.

Alle Probennahmestrategien, die darüber hinausgehen, sind hiervon unbenommen.

Die Empfehlungen gelten für die Probennahme zur qualitativen und quantitativen Untersuchung folgender Betäubungsmittel:

- Ecstasy und Amfetaminderivate (synthetische Drogen allgemein, in Tabletten/Kapselform)
- Pulverproben (Diacetylmorphin, Cocain, Amfetamin etc.)
- LSD
- Marihuana
- Haschisch
- Pilze
- Khat

Hiervon unberührt bleiben Untersuchungen von Spurenrägern auf anhaftende Rauschgifte (z. B. Saugproben, Wischproben, Fixerutensilien), vergleichende Untersuchungen (Materialvergleich, Herkunftsbestimmung) und Spezialfälle (z. B. illegale Labore, Betäubungsmittel-Nachweis in Schmugglerverstecken).

6 Prüf- und Kalibrierverfahren und deren Validierung

6.1 Allgemeines zur Substanzidentifizierung und -quantifizierung

Zur sicheren Substanzidentifizierung und -quantifizierung ist es erforderlich, dass die Anwender sich der Grenzen und Möglichkeiten der jeweiligen Analysenmethode und der Geräte bewusst sind und diese ordnungsgemäß bedienen. Die Analyse muss zum sicheren Nachweis der Einzelstoffe führen.

In der Regel kommt im Falle von Untersuchungen an Substanzproben, die keiner ausgeprägten chromatographischen Trennung bedürfen, die Dünnschichtchromatographie in Verbindung mit der Fourier-Transform–Spektralphotometrie im IR/NIR-Bereich in Betracht. Weiterhin sind die gaschromatographische (GC) oder eine flüssigchromatographische (LC)-Methode in Verbindung mit einem spektrometrischen Verfahren geeignet.

Die Identifizierung von Substanzproben muss mit mehreren voneinander unabhängigen analytischen Verfahren erfolgen. Nach dem Grad ihrer Identifizierungskraft lassen sich die Analysetechniken in die folgenden drei Kategorien A – C einteilen, wobei die Beweiskraft von Kategorie A nach C abnimmt:

<u>Kategorie A</u>	<u>Kategorie B</u>	<u>Kategorie C</u>
Massenspektrometrie	Gaschromatographie	Farbtest
NMR-Spektroskopie	Flüssigchromatographie	Fluoreszenzspektroskopie
Infrarotspektroskopie	Kapillarelektrophorese	UV-Spektrometrie
Raman Spektroskopie	Dünnschichtchromatographie	Schmelzpunktbestimmung
Röntgen-Diffraktometrie	Ionenmobilitätsspektrometrie	Immunoassay

Äußere Merkmale pharmazeutischer
Präparate (z. B. „Gelbe Liste“)

für Cannabisasservate: Mikroskopie bzw.
makroskopische Merkmale

Zur forensisch eindeutigen Identifikation gelten folgende Mindestanforderungen in der Standardanalytik:

Wenn eine Technik der Kategorie A zur Analyse eingesetzt wird, muss mindestens eine weitere Technik eingesetzt werden.

Wird keine der Techniken der Kategorie A zur Analyse eingesetzt, müssen mindestens zwei Techniken aus den Kategorien B und eine aus C eingesetzt werden.

Kombinierte Verfahren (z. B. GC-MS oder HPLC-UV-Diodenarray) gelten nur dann als zwei Verfahren, wenn auch die Informationen beider Verfahren zur Identifizierung herangezogen werden. DC gilt dann als zwei Verfahren (Kategorien B und C), wenn nach der Trennung eine Farbdetektion erfolgt.

Die Identifizierungskraft einer Methode kann vermindert sein, wenn die Probe, der Analyt oder die Anwendung die Beweiskraft verringern. Beispiele für eine Verminderung der Beweiskraft sind beispielsweise:

- eine infrarotspektroskopische Untersuchung einer Mischung
- eine massenspektrometrische Untersuchung, die nur eine Aussage zum Molekulargewicht zulässt.

Beispiele:

Nachweis von Marihuana: Mikroskopie bzw. makroskopische Merkmale (Kategorie B) und Dünnschichtchromatographische Trennung (Kategorie B) sowie Farbdetektion (Kategorie C)

Nachweis von Cocain:

- 1 gaschromatographische Trennung mit Überprüfung der Retentionszeit (Kategorie B) sowie massenspektrometrische Detektion (Kategorie A) oder
- 2 gaschromatographische Trennung ohne Überprüfung der Retentionszeit (keine Kategorie B) sowie massenspektrometrische Detektion (Kategorie A) und Farbttest (Kategorie C).

Alle Untersuchungsergebnisse sind geeignet zu dokumentieren.

Diese Anforderungen an die Identifizierung sind Mindestanforderungen für die sichergestellten gängigen Rauschgifte. Möglicherweise sind diese nicht ausreichend (z. B. Designerdrogen). In einem solchen Fall entscheidet der Sachverständige, welche Kombination von Analysetechniken am besten geeignet ist, die Substanzen zu identifizieren.

6.2 Überwachung der Waagen

6.2.1 Eichung

Alle Waagen, die im öffentlichen Bereich und für die Erstellung von Prüfberichten verwendet werden, müssen von einem Eichamt geeicht sein. Die Eichintervalle liegen bei 2 Jahren. Von den Herstellern oder Kalibrierdiensten ausgestellte Kalibrierscheine ersetzen die Eichung nicht.

6.2.2 Rückführung

Eine Waage muss in festgelegten Abständen mit rückgeführten Gewichten kalibriert und verifiziert werden. Die ISO17025 macht keine Aussage darüber, wie und wie oft dies geschehen soll. Entscheidend sind hier in erster Linie das eigene Qualitätsbedürfnis und auch die Technologie der verwendeten Waage.

Es sind mindestens die im technischen Merkblatt Kriminaltechnik der DAkKS vorgegebenen Prüfungen und Prüfintervalle einzuhalten.

Von den Herstellern wird zur Kalibrierung die Verwendung von je einem Gewicht am unteren und oberen Wägebereich empfohlen. Hierfür müssen zertifizierte Gewichte mit einer zur Waage passenden Genauigkeitsklasse verwendet werden.

Die Gewichte werden in folgende Gewichtsklassen eingeteilt:

<u>Gewichtsklasse</u>	<u>Waagenklasse</u>
F1	Präzisionswaage niedrigauflösend
E2	Analysenwaage, Präzisionswaage hochauflösend
E1	Analysenwaage hochauflösend, Mikrowaage

Je kleiner die Einwaage sein soll, umso höhere Ansprüche sind an die Genauigkeit des Prüfgewichts zu stellen. Einen Überblick geben die Gewichtsklassen nach OIML (Organisation Internationale de Metrologie Legale) mit ihren max. zulässigen Fehlern.

Auch Prüfgewichte müssen rekali­briert oder geeicht werden. Die Intervalle betragen in der Regel 4 Jahre.

6.2.3 Ermittlung der Mindestlast

Bei den Waagen erfolgt durch die Hersteller eine Festlegung der Mindestlast. Als "Mindestlast" bezeichnet man die "untere Grenze des eichfähigen Wägebereichs". Die Mindestlast gilt auch dann noch, wenn z. B. zuerst ein Messkolben auf die Waagschale gestellt und dann Tara gedrückt wurde.

Gewichte unterhalb der Mindestlast können auf einer Waage durch Zuwiegen zu einem weiteren Gewicht (z. B. Messkolben) ermittelt werden (Differenzwägung, d. h. ohne Bedienung der Tara-funktion). Entscheidend ist die Differenz vom Nullwert zur Mindestlast. Wird dies nicht beachtet, ist das Messergebnis mit einem größeren Fehler behaftet (als in dem vom Hersteller bzw. Eichamt abgedeckten Wägebereich).

Mindestens bei Analysenwaagen und Mikrowaagen muss zudem die Mindesteinwaage vor Ort beim Anwender bestimmt werden. Die Mindesteinwaage gibt an, wie leicht das kleinste Wägegut sein darf, bei dem die Waage noch genaue und zuverlässige Messergebnisse liefert. Die Hersteller spezifizieren lediglich eine erste Abschätzung der Mindesteinwaage in ihrem Werbematerial (meist gem. USP). Die Bestimmung der Mindesteinwaage erfolgt in der Regel nicht durch das Eichamt und muss durch einen zertifizierten Kalibrierdienst durchgeführt werden. Die Mindesteinwaage ist abhängig von der vom Labor vorgegebenen zugelassenen Wägeungenauigkeit. Die empfohlene Wägeungenauigkeit liegt zwischen 0,5 und 5 %. Es ist zu beachten, dass die Mindesteinwaage bei keiner Waage unterschritten wird.

Sowohl Mindestlast als auch ggf. Mindesteinwaage müssen für jede Waage am Gerät erkennbar sein.

6.2.4 Prüfintervalle mit Prüfgewichten

Waagen müssen messtäglich mit einem Prüfgewicht auf ihre Funktionsfähigkeit geprüft und diese dokumentiert werden. Externe Prüfgewichte sind grundsätzlich in dem Raum zu lagern, in dem sie eingesetzt werden. Unterschiedliche Temperaturen zwischen Raumluft und Prüfgewicht können zu Messfehlern führen. Die Angleichung an die Raumtemperatur kann mehrere Stunden dauern.

6.2.5 Festlegung von Warn- und Eingreifgrenzen

Für jede Waage muss geregelt sein, wie mit welchen Gewichten zu prüfen ist und welche Messwertabweichungen toleriert werden. Werden die gesetzten Kontrollgrenzen überschritten, muss die Waage deutlich erkennbar außer Betrieb genommen werden. Danach müssen geeignete Maßnahmen (wie justieren, nivellieren, reinigen usw.) ergriffen werden. Die Resultate der Überprüfung müssen dokumentiert werden.

6.3 Überprüfung von Volumenmessgeräten

Geräte zur Volumenabmessung sind als Prüfmittel einer regelmäßigen Funktionsprüfung zu unterziehen, wenn die Volumenmessung Einfluss auf ein Messergebnis hat. Man unterscheidet zwischen Volumenmessgeräten mit mechanischen Bestandteilen (Pipetten, Dispenser, Büretten) und solchen, die keine mechanischen Vorrichtungen beinhalten, dies sind im Regelfall Geräte zur Volumenabmessung aus Glas bzw. Kunststoff.

Die genannten Geräte sind generell vor dem ersten Einsatz und nach jeder Reparatur zu überprüfen. Während des Routinebetriebes ist die Kontrolle dieser Geräte in festgelegten Prüfintervalen durchzuführen, die Vorgehensweise ist ggfs. entsprechend der DAkKS Regel 71 SD 3 026 „Leitlinien und Beispiele für Kalibrier- und Überwachungsfristen von Einrichtungen für Laboratorien in der Kriminaltechnik“ zu regeln. Alle durchgeführten Prüfungen sind zu dokumentieren und zu bewerten, die Geräte sind zur Rückverfolgbarkeit eindeutig und dauerhaft zu kennzeichnen. Von der Überprüfung ausgenommen sind die Gerätschaften aus Glas bzw. Kunststoff ohne mechanische Bestandteile.

6.4 Handhabung von Referenzmaterialien

Es wird unterschieden zwischen Referenzmaterialien für qualitative und für quantitative Analysen.

Das Labor muss den Umgang mit Referenzmaterialien regeln. Referenzmaterialien lassen sich in zertifizierte (primäre) und nicht zertifizierte (sekundäre) Referenzmaterialien einteilen.

Zertifizierte Referenzmaterialien werden mit einem Zertifikat von einer autorisierten Behörde (z. B. NIST) herausgegeben. Nicht zertifizierte Referenzmaterialien lassen sich entweder auf zertifizierte Referenzmaterialien zurückführen oder ihre Eigenschaften sind mittels Prüfverfahren hinreichend charakterisiert worden.

Zur zweiten Kategorie gehören auch In-house (Arbeits)-Referenzmaterialien, die im Labor selbst präpariert werden. Hierzu zählen beispielsweise neue Wirkstoffe, die aus sichergestelltem Material isoliert oder in eigenen Synthesen hergestellt wurden, und ferner Rauschgiftzubereitungen aus der Fallarbeit. In der Regel werden nicht zertifizierte Referenzmaterialien im Labor verwendet, da zertifizierte Materialien für viele Wirkstoffe nicht in ausreichender Menge zur Verfügung stehen oder nicht erhältlich sind.

Für ein Referenzmaterial ist eine hinreichende Charakterisierung z. B. gegeben durch:

- eine Analysenbescheinigung des Herstellers in Verbindung mit einer Eingangsprüfung (siehe 6.4.2)
- die Überprüfung mit einem Referenzmaterial, das bereits verifiziert worden ist (z. B. Ringversuchsprobe)
- die Teilnahme an Ringversuchen
- die Überprüfung mit einer absoluten Analyseverfahren (z. B. NMR)

6.4.1 Lagerung und Kennzeichnung

Gibt ein Hersteller Bedingungen für die Lagerung eines Referenzmaterials an, so ist nach diesen Angaben zu verfahren. Im Ausnahmefall kann hiervon abgewichen werden, wenn dies begründet werden kann. Bei fehlenden Angaben des Herstellers sind die Lagerungsbedingungen für das Referenzmaterial vom Labor festzulegen.

Folgende Mindestangaben sind für jedes Referenzmaterial möglichst am Gebinde zu dokumentieren:

- Substanzname
- geöffnet am
- Haltbarkeitsdatum
- Datum und Unterschriftskürzel

Bei Substanzen, die als Kalibratoren für quantitative Analysen eingesetzt werden, ist zusätzlich die Reinheit (z. B. mindestens 99 %) anzugeben. Im Fall von Referenzlösungen muss die Konzentration des Analyten (z. B. 1 mg/ml) vermerkt werden.

Die Aufbewahrungsorte für Referenzmaterialien sind besonders zu kennzeichnen.

6.4.2 Prüfung und Haltbarkeit der Referenzmaterialien

Referenzmaterialien müssen, wenn möglich und soweit technisch und wirtschaftlich durchführbar, auf zertifizierte Referenzmaterialien rückführbar sein.

Vor der erstmaligen Verwendung muss ein Referenzmaterial überprüft werden.

Die Kontrolle umfasst mindestens eine Prüfung auf Identität. Bei Substanzen, die als Kalibratoren für quantitative Analysen verwendet werden, ist zusätzlich, sofern aufgrund der Substanzmenge möglich, die Reinheit – im Fall von Referenzlösungen die Konzentration des Analyten – zu bestimmen bzw. zu überprüfen. Die zulässige Abweichung wird laborintern festgelegt.

Referenzmaterialien haben in der Regel eine begrenzte Haltbarkeit. Gibt der Hersteller auf dem Analysenzertifikat ein Haltbarkeitsdatum an, so ist dieses zu verwenden. Sofern keine Angaben zur Verfügung stehen, muss das Labor die Haltbarkeit für ein Referenzmaterial festlegen.

Vor Ablauf der Haltbarkeit ist ein Referenzmaterial zu überprüfen (siehe 6.4).

Ergibt die Prüfung eine weitere Eignung des Referenzmaterials, so ist ein neues Haltbarkeitsdatum für das Material festzulegen.

6.5 Nasschemische Farbvortests und Nachweisreaktionen

Nasschemische Vortests sind schnelle und einfache Verfahren zur Einordnung von Substanzgemischen in spezielle Substanzklassen. Damit wird die Wahl für weitere Methoden zur eindeutigen Identifizierung und gegebenenfalls Quantifizierung vereinfacht.

Als selektivere Auswertung haben sich für die unterschiedlichen Substanzklassen z. B. folgende Detektionssysteme bewährt:

- Cannabisinhaltsstoffe: Vanillinprobe (Vanillin/Acetaldehyd)
- Opiate/Amfetamine (Phenylethylamine): Formalin/Schwefelsäure
- Cocain: Kupfersulfat/Kaliumthiocyanat
- Zucker/Kohlehydrate: Fehlingprobe (Kupfersulfat/Kaliumnatriumtartrat)
- Stärke: Lugol'sche Lösung
- Steroide: Chloroform, Schwefelsäure
- Tenside: Dimidumbromid, Disulfidblau
- Nasschemische Anionennachweise (Chlorid, Sulfat, Phosphat, ...)

6.6 Dünnschichtchromatographie (DC)

Die Dünnschichtchromatographie ist eine schnelle Methode zur Trennung und Detektion von Stoffgemischen. Damit ist die Untersuchung von Mischungen von Betäubungsmitteln, Streckmitteln und Verschnittstoffen möglich. Um reproduzierbares Arbeiten zu gewährleisten, ist es notwendig, einen Standard mitlaufen zu lassen, da eine ganze Reihe von Faktoren die Trennung beeinflussen und schwierig zu kontrollieren sind. Dabei dürfen die verwendeten Probenmengen nicht zu stark differieren. Auch die Salzform einer Verbindung oder Matrixeffekte können Einfluss auf die Schärfe der

Flecke und den Retentionsfaktor (Rf-Wert) haben (z. B. Cocainbase und Cocainhydrochlorid). Der Analyt muss im Eluenten stabil sein. Die DC kann auch zur quantitativen Bestimmung oder als präparative Methode zur Vorreinigung für andere Messverfahren verwendet werden.

6.6.1 Durchführung

In der Regel werden die entwickelten Platten zuerst durch Visualisierung mittels UV Licht ausgewertet. Als weitere, selektivere Auswertung haben sich für die unterschiedlichen Substanzklassen z. B. folgende Detektionssysteme bewährt:

- Cannabinhaltsstoffe: Echtblausalz
- stickstoffhaltige organische Verbindungen: Jodplattat (gegebenenfalls anschließend HCl)
- Amfetamine (Phenylethylamine): Ninhydrin und Dansylchlorid
- LSD und halluzinogene Pilze: van Urk
- Phenolische Substanzen: Eisen-(III)-chlorid
- unspezifisch: Iodlösung
- Kohlenhydrate: Anisaldehyd/Schwefelsäure

6.6.2 Auswertung

Die Startflecke der Proben und Referenzproben werden eindeutig zugeordnet. Die DC-Platten werden in jeder zur Interpretation der Flecke entscheidenden Phase in geeigneter Weise, ggfs. fotografisch, möglichst mit einem digitalen Dokumentationssystem, festgehalten.

6.7 Infrarotspektrometrie (IR)

Die Infrarotspektrometrie (IR) beinhaltet Mittelinfrarotspektrometrie (MIR) und Nahinfrarotspektrometrie (NIR) und ist für qualitative und quantitative Analysen geeignet. Die Leistungsfähigkeit der IR-Analytik ist nicht nur vom Gerät sondern wie auch bei anderen Methoden von den Zielanalyten abhängig. IR-Bandenanzahl, Wert/Bereich der Banden (Wellenzahl) und Intensität (Extinktionskoeffizient) bestimmen Möglichkeiten und Grenzen der IR-Analytik einer Substanz bzw. eines Substanzgemisches.

Die Möglichkeit zur Identifizierung geht in Einzelfällen über die von anderen leistungsfähigen qualitativen Methoden hinaus. Dies betrifft Differenzierungen von Salz- und Hydratformen, verschiedenen kristallinen Formen (Polymorphie) und Stellungsisomeren.

Die NIR wird vorwiegend für Gehaltsabschätzungen und Quantifizierungen genutzt. Ein weiteres Einsatzgebiet der NIR stellt die Produktüberprüfung („Identitätsprüfung“) dar.

6.7.1 Funktionskontrolle der Infrarotspektrometrie

Die Funktionskontrolle stellt die einwandfreie Arbeitsweise von Analysegeräten sicher. Die Funktionskontrolle kann durch eine Kontrollsoftware (Autocheck) oder durch Analyse einer geeigneten Kontrollprobe erfolgen. Die Ergebnisse der Messung einer Funktionskontrollprobe müssen festgelegten Kriterien genügen und sind zu dokumentieren.

Bei der Infrarotspektrometrie müssen die vom Gerätehersteller angegebenen Spektrometerspezifikationen bekannt und die von den Geräteherstellern angegebenen Werte im Rahmen zulässiger Schwankungen gewährleistet sein.

Spektrometerspezifikationen sind z. B.:

- Wellenzahlauflösung
- Wellenzahlgenauigkeit
- Signal/Rauschverhältnis (S/R)

Für Geräte anderer Messprinzipien sind analoge Leistungsnachweise zu dokumentieren.

6.7.2 Durchführung

Moderne IR Spektrometer lassen unterschiedliche Messtechniken zu, die bei chemisch identischer Substanz zu variierenden Spektren führen bzw. führen können (KBr-Pressling, ATR-Pulver, ATR-Lösung, etc.). Die qualitative MIR-Analytik wird in der Regel bei einfachen, wenig komplexen Gemischen (z. B. Heroinzubereitungen), Flüssigkeiten und Reinsubstanzen eingesetzt. Spurenkomponenten werden in der Regel nicht erfasst. Quantitative Methoden sind umso praktikabler je weniger komplex die qualitative Zusammensetzung ist. Die Anwendung von quantitativen Bestimmungen ist unter Berücksichtigung der Fragestellung, der Eigenschaften des/der Zielanalyten und der Matrix zu prüfen. Da für Kalibrierungen (univariate bzw. multivariate Methode) in der Regel authentisches Referenzmaterial aus Sicherstellungen herangezogen wird, muss dessen Zielanalyt mit einer anderen, unabhängigen analytischen Methode (z. B. GC) quantitativ bestimmt werden. Vergleichbare Messunsicherheiten wie bei chromatographischen Bestimmungen lassen sich nur in einigen speziellen Fällen erzielen.

Man unterscheidet zwischen univariaten und multivariaten Methoden:

Univariate Methoden (nur MIR) basieren auf der Abhängigkeit der Intensität einer Absorptionsbande einer Substanz von der Konzentration dieser Substanz in einem Gemisch, ohne dass von einer relevanten Beeinträchtigung dieser Absorptionsbande durch Matrixeffekte auszugehen ist.

Multivariate Methoden (MIR und NIR) auch als chemometrische Methoden bezeichnet, basieren auf mathematischen Algorithmen (z. B. PCA, PLS) bei denen im Allgemeinen größere spektrale Bereiche herangezogen werden. Der Gehalt einer wie auch mehrerer Komponenten kann simultan abgeschätzt bzw. bestimmt werden.

Die Leistungsfähigkeit einer qualitativen oder quantitativen Methodik basiert z. B. auf:

- eigenen erstellten Spektrenbibliotheken
- dem Vergleich von IR-Ergebnissen mit denen einer anderen, unabhängigen analytischen Methode
- wiederholt praktisch angewendeten Bestimmungen an variierenden Substanzgemischen bekannter Zusammensetzung
- erworbenen Spektrenbibliotheken

6.7.3 Auswertung

6.7.3.1 Spektrenbearbeitung

Die Spektrenprüfung umfasst die Bewertung des Signal/Rauschverhältnisses, der Bereiche von eventuell vorliegender Totalabsorption oder sonstiger Störeinflüsse (Wasser-, Kohlendioxidbanden).

Unter Spektrenauswertung ist auch die Spektrenbearbeitung zu verstehen wie beispielsweise:

- Basislinienkorrektur
- Glätten von Spektren
- Normierung von Spektren
- Subtraktion von Spektren

6.7.3.2 Spektrenauswertung qualitative Analyse

Ein infrarotspektroskopischer Nachweis einer Substanz in einem Substanzgemisch liegt vor, wenn das Spektrum eine hinreichende Übereinstimmung charakteristischer Banden bzgl. Lage und Intensität mit dem Vergleichs- oder Bibliotheksspektrum der Zielsubstanz aufweist und ein Fehlen intensiver Banden nicht vorliegt. Die Anzahl der mit der Zielsubstanz übereinzustimmenden Banden ist von der Art des Spektrums (bandenreich oder bandenarm) abhängig.

Zielsubstanzen können auch Gemische bekannter Zusammensetzung sein. (z. B. Heroingemische bestehend aus Diacetylmorphin mit Begleitalkaloiden).

6.7.3.3 Spektrenauswertung quantitative Analyse/Abschätzung

Univariate Bestimmung:

Die Anforderungen entsprechen den chromatographischen Methoden. Bei univariaten Bestimmungen darf keine Bandenüberlagerung der zur Bestimmung herangezogenen Absorptionsbande mit anderen Banden vorliegen. Die Qualitätssicherung erfolgt analog den bei chromatographischen Methoden angewendeten Richtlinien.

Multivariate Bestimmung:

Die Einhaltung der für eine multivariate Bestimmung vorgegebenen Bedingungen ist zwingend.

Dazu ist u. a. eine ausreichend große Anzahl von Spektren bekannter qualitativer und quantitativer Zusammensetzung erforderlich.

Die Kalibration erfolgt nach vorgegebenen Bedingungen (Kalibrationssoftware für multivariate Bestimmungen des jeweiligen Herstellers).

Zur Analyse der Realprobe ist entweder ein Homogenisat zu messen oder die Messung an mindestens zwei Stellen durchzuführen, um mögliche Fehler (z. B. Inhomogenität) zu erkennen.

Externe QC-Proben (Qualitätskontrolle) (z. B. Ringversuche) werden in geeigneten Intervallen bzw. bei Bedarf mitgeführt.

Die externe Qualitätskontrolle erfolgt über Ringversuche.

6.8 Gaschromatographie (GC) (ISO 17025 Abschnitt 5.4)

Gaschromatographische Analysen mit nichtmassenselektiver Detektion werden in der Regel nicht als Screening- sondern als Targetanalysen zur quantitativen Bestimmung von Wirkstoffgehalten durchgeführt. Wichtig sind hierbei eine hohe chromatographische Auflösung, geringe Signalbreite/Tailing sowie eine hohe Reproduzierbarkeit der Signalflächen bzw. Signalflächenverhältnisse.

Der gaschromatographische Nachweis einer Substanz erfolgt über den Vergleich der Retentionszeit (RT) bzw. der relativen Retentionszeit des Analyten bezüglich des internen Standards (RRT).

Anforderungen an die Reproduzierbarkeit der absoluten (RT) oder relativen (RRT) Retentionszeit für Analyseverfahren

Chromatographische Trennung	Akzeptierte Toleranz	
	ΔRRT *	ΔRT **
Gaschromatographie	$\pm 1 \%$	$\pm 2 \%$

* Relative Retentionszeit der Substanz im Verhältnis zum Internen Standard im Vergleich zu einer Referenzprobe

** Retentionszeit der Substanz im Vergleich zu einer zeitnah unter vergleichbaren Bedingungen gemessenen Referenzprobe

Für quantitative Untersuchungen sollten interne Standards in ausreichender, nicht zu hoher Konzentration eingesetzt werden. Als interner Standard sollten Substanzen gewählt werden, deren Vorkommen im Probenmaterial nicht zu erwarten ist. Bei der Auswahl des internen Standards ist auf

eine ausreichende Langzeitstabilität (auch in Lösung) sowie auf eine saubere chromatographische Trennung von den in der Probe zu erwartenden Substanzen zu achten.

6.8.1 Funktionskontrollen

Die Überprüfung der Funktionstüchtigkeit des Analysensystems erfolgt anhand der Messung von Funktionskontrollen, die auch Teil einer Messreihe sein können. Bei Einsatz des GC-Systems kann dies z. B. durch Messung einer Probe mit bekannter Zusammensetzung erfolgen. Die Ergebnisse der Messung einer Funktionskontrollprobe müssen festgelegten Kriterien genügen und sind zu dokumentieren.

6.8.2 Kalibration

Bei messtäglicher Kalibration in der Messserie⁴ sind mindestens drei von Null verschiedene Kalibratoren, die den relevanten Konzentrationsbereich abdecken, einzusetzen.

Die Konzentration der Kalibratoren muss innerhalb des während der Validierung ermittelten Arbeitsbereiches liegen. Ein Nullwert sowie „Forced to zero“ dürfen bei der Berechnung der Kalibrationsgerade nicht verwendet werden. Es müssen Kriterien hinsichtlich Steigung und Achsenabschnitt (oder vergleichbare Größen bei nicht linearen Funktionen) für die Akzeptanz der Kalibration festgelegt sein.

Bei nicht messtäglicher Kalibration sind abweichend vom o.g. mindestens fünf von Null verschiedene Kalibratoren, die den relevanten Konzentrationsbereich abdecken, einzusetzen.

Der Korrelationskoeffizient muss größer als 0,99 betragen.

Es ist mindestens dann eine neue Kalibration durchzuführen, wenn die Qualitätskontrollen nicht den festgelegten Kriterien (Kontrollkarte) genügen (siehe 6.8.5).

6.8.3 Messreihen und laborinterne Qualitätssicherung

Zur Analyse der Realprobe sind mindestens zwei Einwaagen separat aufzuarbeiten und zu messen, um mögliche Fehler (z. B. Wäge- oder Pipettierfehler, Inhomogenität) zu erkennen.

Innerhalb einer Messreihe wird zu Beginn eine Leerprobe gemessen und anschließend Realproben, QC-Proben (Qualitätskontrolle) und gegebenenfalls Kalibratoren mitgeführt. Die QC-Proben sind bei langen Messreihen (Realproben) ausreichend oft zu wiederholen (mindestens nach jedem 20. Vial, d.h. bei doppelter Einwaage nach jeder 10. Realprobe).

Die (fortlaufende) interne Qualitätskontrolle erfolgt durch die Messung von QC-Proben. Bei messtäglicher Kalibration ist die Mitführung einer Kontrollprobe im Arbeitsbereich der Kalibration ausreichend.

⁴ Als Messserie ist die chronologisch fortlaufende Messung von Proben ohne zeitliche Unterbrechung oder Ausschalten des Analysengeräts zu verstehen.

Bei nicht messtäglicher Kalibration sind mindestens zwei QC-Proben, eine im unteren und eine im oberen Konzentrationsbereich (Präzisions- oder Richtigkeitskontrolle) zu verwenden.

Da nicht im Spurenbereich gearbeitet wird und Mehrfachbestimmungen durchgeführt werden, kann auf die Messung von Leerproben zwischen den Proben verzichtet werden.

6.8.4 Externe QC-Proben

Die externe Qualitätskontrolle erfolgt über Ringversuche.

Bei Bedarf sind Ringversuchsproben zur Überprüfung der Richtigkeit in der Messserie mitzuführen.

6.8.5 Kontrollkarten

In der Kontrollkarte für Standardanalyten (in der Routineanalytik zu quantifizierende, rechtlich relevante Stoffe) werden tabellarisch und/oder graphisch die Ergebnisse der QC-Proben dargestellt. Es wird pro Analyt und Messgerät mindestens eine Kontrollkarte geführt.

Das Ergebnis der QC-Messung wird unmittelbar in die Kontrollkarte eingetragen. Eine Außerkontrollsituation liegt bei einer Abweichung von größer als 3 Sigma vor. Bei Festlegung eines Vertrauensbereichs muss dieser Wert kleiner als 3 Sigma sein. Die Vorperiode zur Ermittlung der Standardabweichung umfasst mindestens 6 QC-Proben, die an unterschiedlichen Tagen gemessen und separat aufgearbeitet wurden.

6.8.6 Ergebnisangabe

In der Regel wird bei quantitativen Bestimmungen der Mittelwert von einer Mehrfachbestimmung angegeben. Akzeptanzkriterien zur Streuung der Einzelwerte sind im Vorfeld festzulegen. Wird ein quantitatives Ergebnis, das unterhalb der Arbeitsbereichsgrenze und oberhalb der Nachweisgrenze liegt, erhalten, so ist dieses mit „ca.“ oder mit „kleiner als...“ zu bezeichnen. Liegen Analyseergebnisse oberhalb des Arbeitsbereiches der Methode, sind die Analysen entweder mit geeigneten Einwaagen zu wiederholen oder mit „ca.“ bzw. mit „größer als...“ zu bezeichnen. Eine Bemerkung, dass ein Wert außerhalb des Arbeitsbereiches liegt, muss zur Erläuterung eingefügt werden.

6.8.7 Messunsicherheit

Die Abschätzung der Messunsicherheit kann anhand eigener Resultate von Ringversuchen sowie den aus Präzisionskontrollen ermittelten Daten aus der Methodvalidierung bzw. nach Nordtest Technical Report erfolgen. Alternativ kann nach anderen Verfahren wie z. B. den Empfehlungen der SWGDRUG oder den allgemeinen Leitlinien der EURACHEM/CITAC verfahren werden.

6.9 Flüssigchromatographie (LC)

Flüssigchromatographische Analysen mit nichtmassenselektiver Detektion werden als Screening- und als Targetanalysen zur quantitativen Bestimmung von Wirkstoffgehalten durchgeführt. Wichtig sind

hierbei eine hohe chromatographische Auflösung, geringe Signalbreite/Tailing sowie eine hohe Reproduzierbarkeit der Signalfächen bzw. Signalfächenverhältnisse. Der flüssigchromatographische Nachweis einer Substanz erfolgt über den Vergleich der Retentionszeit (RT) bzw. der relativen Retentionszeit des Analyten bezüglich des internen Standards (RRT) und in der Regel über den Vergleich von UV-Spektren z. B. mittels Diodenarray-Detektion (DAD).

Anforderungen an die Reproduzierbarkeit der absoluten (RT) oder relativen (RRT) Retentionszeit für Analysenverfahren

Chromatographische Trennung	Akzeptierte Toleranz	
	ΔRRT^*	ΔRT^{**}
Flüssigchromatographie	$\pm 2,5 \%$	$\pm 5 \%$

* Relative Retentionszeit der Substanz im Verhältnis zum Internen Standard im Vergleich zu einer Referenzprobe

** Retentionszeit der Substanz im Vergleich zu einer zeitnah unter vergleichbaren Bedingungen gemessenen Referenzprobe

Werden die in einer LC-DAD-Spektrenbibliothek angegebenen Retentionsdaten zur Identifizierung herangezogen, so ist auf Einhaltung aller dort angegebenen chromatographischen Bedingungen [Zusammensetzung der mobilen Phase (insbesondere pH-Wert), Temperaturkonstanz, stationäre Phase, Fließgeschwindigkeit, Retentions-Standardsubstanzen] zu achten. Es können bei schwankenden Analysenbedingungen gewisse Abweichungen der Retentionszeit von der in der Datenbank angegebenen bei der Substanzsuche toleriert werden. Zur Absicherung des LC-Nachweises sollte bei größeren Abweichungen eine direkte Vergleichsmessung der entsprechenden Referenzmaterialien vorgenommen werden. Bei Einsatz des DAD zum Screening ist die Funktionstüchtigkeit der LC-DAD-Anlage zu Beginn jedes Arbeitstages durch Messung einer geeigneten Testlösung zu überprüfen. Die Lösung sollte so zusammengesetzt sein, dass das erhaltene Chromatogramm im Hinblick auf die UV-Detektion Aufschluss über die Richtigkeit folgender Parameter gestattet:

- Wellenlängenzuordnung/-richtigkeit (DAD)
- Spektroskopisches Auflösungsvermögen (DAD)

Das Chromatogramm ist bezüglich folgender Parameter mit Sollwerten zu vergleichen:

- Übereinstimmung der UV-Spektren mit den Sollspektren (spektrale Reinheit)
- Richtigkeit der λ_{max} -Werte (Wellenlängengenauigkeit).

Vor Anwendung der Bibliothekssuche muss jeder Peak durch die von der DAD-Software gebotenen Möglichkeiten auf Einheitlichkeit überprüft werden. Lässt sich aus einem Peak kein einheitliches Spektrum gewinnen oder besteht an der Einheitlichkeit anderweitig begründeter Zweifel, so muss die

Analyse gegebenenfalls zur Trennung der überlagerten Peaks unter veränderten chromatographischen Bedingungen wiederholt werden. Jedoch kann in bestimmten Fällen zum Nachweis mittels LC-DAD auch die Auswertung des Spektrums in der Peakflanke sinnvoll sein. UV-Spektren besitzen eine sehr gute Reproduzierbarkeit. Daher erfordert der Nachweis mittels LC-DAD eine Übereinstimmung des gesamten Probenspektrums mit dem Bibliotheksspektrum. UV-Spektren besitzen je nach spektraler Ausdehnung im erfassten Wellenlängenbereich und der Häufigkeit des zugrunde liegenden Chromophors eine unterschiedliche Spezifität. Gegebenenfalls, insbesondere bei Spektren geringerer Spezifität, sind daher andere, unabhängige Verfahren zur Bestätigung der Identität heranzuziehen. Für quantitative Untersuchungen kann die Kalibrierung extern oder intern erfolgen. Wenn ein interner Standard verwendet wird, sollten Substanzen gewählt werden, deren Vorkommen im Probenmaterial nicht zu erwarten ist. Bei der Auswahl des internen Standards ist auf eine ausreichende Langzeitstabilität (auch in Lösung) sowie auf eine saubere chromatographische Trennung von den in der Probe zu erwartenden Substanzen zu achten.

Ansonsten sei auf 6.8.2 Kalibration, 6.8.3 Messreihen und laborinterne QS, 6.8.4 Qualitätskontrolle, Zu 6.8.5 Kontrollkarten, 6.8.6 Ergebnisangabe bis 6.8.7 Messunsicherheit verwiesen.

6.10 Massenspektrometrie (MS) (ISO 17025 Abschnitt 5.4)

Die Massenspektrometrie wird in der Regel in der Kopplung mit einem chromatographischen Trennverfahren (GC oder LC) betrieben. Sie kann als Screening - Verfahren oder zur Quantifizierung eingesetzt werden.

6.10.1 Funktionskontrolle

Dies beinhaltet das regelmäßige Einstellen und Überprüfen der Geräte-Parameter („Tuning“): die regelmäßige Überprüfung und ggfs. Kalibrierung der Massenachse, die Herstellung der erforderlichen massenspektrometrischen Auflösung und die Kontrolle der massenspektrometrischen Empfindlichkeit. Für Screening-Verfahren sollte ein Gemisch von Substanzen mit unterschiedlichen chromatographischen Eigenschaften eingesetzt werden. Mit Hilfe des zur Kontrolle der chromatographischen Trennung eingesetzten Testgemischs kann gleichzeitig auch die Empfindlichkeit des Massenspektrometers überprüft werden. Die Ergebnisse der Messung einer Funktionskontrollprobe müssen festgelegten Kriterien genügen und sind zu dokumentieren.

6.10.2 Ionisierungstechniken

Die Ionisationsart unterliegt keiner prinzipiellen Restriktion und muss den Anforderungen des Analyten hinsichtlich Ionisierbarkeit und Stabilität angepasst werden (Polarität, Ionisationsenergie, Fragmentierung). Die Elektronenstoßionisation (EI) ist bei der GC-MS die zurzeit am häufigsten verwendete Ionisationstechnik zum Nachweis organischer Substanzen. Für spezielle Fragestellungen kann der Einsatz von Chemischer Ionisation im negativen oder positiven Modus (NCI oder PCI) vorteilhaft sein.

Die gängigsten Ionisierungsarten bei der LC-MS sind Elektrosprayionisation (ESI) und Chemische Ionisation bei Atmosphärendruck (APCI). Bei Verwendung von LC-MS-Techniken ist besonders auf Matrixeffekte zu achten, durch die das Signal des Analyten sowohl unterdrückt als auch verstärkt werden kann.

6.10.3 Nachweiskriterien bei MS-Detektion

Beim Nachweis von Stoffen mittels Massenspektrometrie wird zwischen der Aufnahme von Full-Scan-MS und der Aufnahme mittels Einzelionendetektion (SIM bzw. MRM) unterschieden.

Sowohl im Full-Scan- als auch im Einzelionenscan-Modus gilt ein Peak als erkannt (und damit zum Nachweis als auswertbar), wenn sich die Peaks der Ionenspuren mehrerer charakteristischer Fragmente mindestens um den Faktor drei vom Untergrundrauschen abheben (Signal-Rausch-Verhältnis $\geq 3 : 1$).

6.10.3.1 Full scan MS Detektion

Der Full scan MS-Modus wird vor allem für Suchanalysen eingesetzt. Diese schließen eine Datenbankrecherche mit ein. Der massenspektrometrische Nachweis einer Substanz sollte sich auf das Massenspektrum einer einheitlichen Spezies (Peakreinheit) beziehen.

Dies ist ggfs. über die Peakbreite zu prüfen. Bei der Aufzeichnung von vollständigen Spektren sollten in der Regel alle gemessenen Fragmentionen (Molekülion, charakteristische Addukte des Molekülions, charakteristische Fragmentionen und Isotopenionen), die im Referenzspektrum enthalten sind, vorhanden sein. Das Molekülion sollte eingeschlossen sein, wenn es im Referenzspektrum vorhanden ist. Es sollte auch auf Fragmentionen geringer Intensität im hohen Massenbereich geachtet werden, da diese insbesondere bei Designerdrogen oftmals allein eine Unterscheidung von isobaren Verbindungen ermöglichen. Zum Nachweis besitzen Fragmentionen eine umso höhere Signifikanz je höher ihre Masse ist. Das Auftreten zusätzlicher (im Referenzspektrum fehlender) Ionen, muss durch Koelution mit Matrixkomponenten erklärbar sein.

Bei Verwendung einer computerunterstützten Datenbanksuche sind potentielle Treffer auf Plausibilität zu prüfen. Die Durchführung einer Untergrundsubtraktion oder Dekonvolution muss nachvollziehbar sein.

Zur Substanzidentifizierung mittels GC-MS oder LC-MS Kopplung dient als weiteres Nachweiskriterium der Retentionsindex oder die Retentionszeit der Verbindung. Der Retentionsindex muss sich in einem vertretbaren Bereich um denjenigen der Reinsubstanz befinden.

Retentionsindizes können veröffentlichten Quellen entnommen werden und sind säulenmaterialspezifisch.

Im Zweifel sind Messungen mithilfe der Reinsubstanz vorzunehmen oder evtl. weitere Untersuchungstechniken (andere Ionisierungsart, Tochterionenspektroskopie oder massenspektro-

metrische Vermessung von Derivaten) erforderlich, um das Ergebnis abzusichern. Dies gilt insbesondere für die Designerdrogen, die sich oft nur in kleinen Details von den Stammverbindungen unterscheiden, sehr ähnliche Massenspektren und auch sehr ähnliche Retentionszeiten besitzen können, oder in Fällen, in denen es sich um Regioisomere handelt, die massenspektrometrisch und retentionszeitmäßig nicht unterschieden werden können.

6.10.3.2 Einzelionendetektionen

Bei der Anwendung von Massenspektrometern ist für quantitative Methoden oder zur Detektion von Spuren aufgrund der höheren Empfindlichkeit und besseren statistischen Sicherheit bei Quadrupol-spektrometern die Einzelionendetektion der Analyse über einen großen Massenbereich (Full-Scan) überlegen. Die Substanzidentifizierung mit Hilfe der Einzelionendetektion erfordert den Nachweis von mindestens drei substanzcharakteristischen Ionen pro Analyt mit entsprechendem Signal-Rausch-Verhältnis, Ionenintensitätsverhältnis und derselben Retentionszeit.

Nur in analytisch begründeten Ausnahmefällen kann die Identifizierung mit nur zwei Ionen erfolgen. Die dabei ausgewählten Fragmentionen sollen möglichst das gesamte Molekül repräsentieren, demnach nicht ausschließlich aus demselben Fragment des Moleküls stammen. Vorzugsweise sollte das Molekülion eines der ausgewählten Ionenmassen sein. "A+2" Element-Isotopenpeaks (Cl, Br) sind akzeptabel. Fragmentionen im unteren Massenbereich (z. B. $m/z = 15, 18, 29, 73$) sollten dabei zur Identifizierung nicht verwendet werden, weil sie bei vielen Substanzen auftreten können und daher auch schon wegen des zu erwartenden Untergrunds für Einzelionenmessungen nicht zu empfehlen sind. Davon sind jedoch Ausnahmen möglich, z. B. die sehr charakteristischen Immoniumionen ($m/z = 30, 44, 58 \dots$), die bei Phenethylaminen oft den Basispeak des Massenspektrums bilden, oder andere spezifische Fragmente (z. B. McLafferty-Umlagerungsprodukte) im kleinen Massenbereich, die für die Identifikation eine hohe Signifikanz besitzen. Je höher die Fragmentmasse jedoch ist, desto aussagekräftiger wird das Fragment zur Identifizierung der Verbindung. Das Intensitätsverhältnis der gewählten Ionen zueinander ist ein wichtiges Kriterium zur Identifizierung. Die relativen Ionenintensitäten (Fragmentionen-Peakflächen- bzw. Peakhöhenverhältnisse) müssen den Verhältnissen in einer Referenzprobe entsprechen. Sie werden ausgedrückt als Prozentsatz der Intensität (Peakfläche oder Peakhöhe) des intensivsten Ions (= 100%) oder Übergangs. Akzeptierte Toleranzen für Quadrupolspektrometer finden sich in der folgenden Tabelle.

Akzeptierte Toleranzen der relativen Intensitäten von diagnostischen Ionen bei verschiedenen MS-Techniken für Quadrupolspektrometer

Relative Ionenintensität	GC-EI-MS (relativ*)	GC-CI-MS, GC-MS _n , LC-MS, LC-MS _n ** (relativ*)
> 50 %	20 %	20%
> 20-50 %	20 %	25 %
> 10-20 %	25 %	30%
≤ 10 %	50 %	50 %

* Relativ = bezogen auf den Wert der relativen Ionenintensität

** n>1

Bei größeren Abweichungen ist die Analyse zu wiederholen bzw. darzulegen, weshalb eine höhere Abweichung einer einzelnen Masse toleriert werden kann. Eine mögliche Plausibilitätskontrolle wäre z. B. die Anwesenheit von Zerfalls- oder Nebenprodukten oder die Einbeziehung der Ergebnisse anderer Analysenverfahren.

6.10.3.3 MSⁿ mit Fullscandetection

Alle charakteristischen Ionen eines Referenzspektrums müssen im gemessenen MS vorhanden sein. Ausnahmefälle sind zu begründen. Das Auftreten zusätzlicher (im Referenzspektrum fehlender) Ionen muss durch Koelution mit Matrixkomponenten erklärbar sein. Bei Verwendung einer computerunterstützten Datenbanksuche sind potentielle Treffer auf Plausibilität zu prüfen.

Die Durchführung einer Untergrundsubtraktion oder Dekonvolution muss nachvollziehbar sein.

6.10.3.4 Detektion mehrerer Fragmentierungsreaktionen

Der Nachweis von zwei Massenübergängen im multiple reaction monitoring (MRM) Modus gilt als hinreichende Identifikation, sofern sich die relativen Fragmentionenintensitäten im akzeptierten Bereich bewegen (s. Tabelle unter 6.9.3.2) und die Retentionszeit oder der Retentionsindex zusätzlich mitgeprüft wird oder deuterierte interne Standards bei der Messung vorhanden sind.

Das Vorläuferion (beispielsweise das Pseudomolekülion) kann dabei identisch sein, sofern sich die Produktionen hinreichend unterscheiden (verschiedene charakteristische Fragmentierungen). Bei größeren Abweichungen der Ionenintensitätsverhältnisse ist die Analyse zu wiederholen bzw. darzulegen, weshalb eine höhere Abweichung einer einzelnen Masse toleriert werden kann. Eine mögliche Plausibilitätskontrolle wäre z. B. die Anwesenheit von Zerfalls- oder Nebenprodukten oder die Einbeziehung der Ergebnisse anderer Analysenverfahren.

7 Maßnahmen zur Ergebnissicherheit (interne und externe Qualitätskontrolle)

Zur Gewährleistung der Analysenqualität müssen sowohl interne als auch externe Qualitätssicherungsmaßnahmen erfolgen.

7.1 Interne Qualitätskontrolle

Die interne Qualitätskontrolle wird in den einzelnen Kapiteln zu den jeweiligen Analysemethoden geregelt.

Richtigkeitskontrolle

Bei quantitativen Analysen beschreibt die Richtigkeit das Ausmaß der Übereinstimmung zwischen dem Sollwert einer aus zertifiziertem Referenzmaterial hergestellten Kontrollprobe und dem gemessenen Wert. Die Richtigkeitskontrolle sollte in dem zu erwartenden Konzentrationsbereich liegen.

Falls kein zertifiziertes Referenzmaterial eingesetzt wird, können Kontrollproben mit reinen Referenzmaterialien selbst hergestellt werden. Die zuverlässige Verwendbarkeit muss im Rahmen der internen bzw. externen Qualitätskontrolle belegt sein (siehe 6.4).

Präzisionskontrolle

Die Präzision beschreibt das Ausmaß der Übereinstimmung der Ergebnisse wiederholter Messungen.

Sie wird quantitativ durch die Standardabweichung oder den Variationskoeffizienten von Wiederholungsmessungen in einem Probenmaterial beschrieben. Zu unterscheiden sind:

- Präzision in der Serie
- Präzision von Tag zu Tag
- Laborpräzision (Mitarbeiter-, Gerätewechsel).

Präzisionskontrollproben können in ihrer Zusammensetzung unbekannt sein, müssen jedoch homogen und bei sachgemäßer Lagerung während der Verwendungszeit unverändert haltbar bleiben.

7.2 Externe Qualitätskontrollen

Die externe Qualitätskontrolle erfolgt in der Regel durch Ringversuche. Diese ergänzen laborinterne Richtigkeitskontrollen und gewährleisten zugleich die objektive Überwachung der Richtigkeit von Ergebnissen qualitativer und quantitativer forensisch-chemischer Untersuchungen von Betäubungsmitteln. Die Liste von Analyten, für die Ringversuche durchgeführt werden, unterliegt der ständigen Aktualisierung.

Laboratorien, die analytisch-chemische Untersuchungen von Betäubungsmitteln für forensische Zwecke durchführen, sind zur regelmäßigen Teilnahme an einschlägigen Ringversuchen verpflichtet.

7.3 Validierung von Untersuchungsmethoden

7.3.1 Qualitative Untersuchungsmethoden

Für qualitative Untersuchungsmethoden sind die Spezifität/Selektivität und gegebenenfalls die Nachweisgrenze zu bestimmen.

Selektivität ist die Fähigkeit einer Methode, mehrere verschiedene, parallel zu bestimmende Komponenten ohne gegenseitige Störungen zu erfassen und sie eindeutig zu identifizieren.

Spezifität ist die Fähigkeit einer Methode, eine Substanz oder eine Substanzklasse ohne Verfälschung durch andere in der Probe vorhandene Komponenten zu erfassen und sie somit eindeutig zu identifizieren.

Die Nachweisgrenze ist definiert als die niedrigste Konzentration des Analyten in der Probe, bei der eine Identifizierung möglich ist.

Bestimmung in der Praxis:

Nasschemische Vortestverfahren:

Diese Verfahren sind hinweisgebende Verfahren. Es kann auf einen Nachweis der Selektivität und auf eine Bestimmung der Nachweisgrenze verzichtet werden, da in der Regel nur Substanzklassen erfasst werden und ein Befund allein aufgrund eines nasschemischen Vortestes für die Identifikation von organischen Verbindungen nicht zulässig ist.

Dünnschichtchromatographie (DC):

Zur Bestimmung der Selektivität werden die für das Untersuchungsziel infrage kommenden Analyten einmalig einzeln aufgetragen und die Lage und Färbung der Flecken bzw. der Fleckenmuster unter Anwendung geeigneter Fließ- und Detektionsmittel geprüft. Als Vergleich kann auch eine Kontrollprobe (Realprobe) dienen. Die Selektivität kann darüber hinaus auch durch das Trennvermögen an Hand der R_f -Werte bestimmt werden.

Wird ein negatives Ergebnis allein aufgrund einer dünnschichtchromatographischen Bestimmung für einen forensischen Befund ermittelt, muss die Nachweisgrenze des Verfahrens bekannt sein.

Die Nachweisgrenzen der zu detektierenden Analyten sind durch mehrfache Wiederholung von definierten Konzentrationen zu bestimmen. Wird ein empfindlicheres zweites Verfahren zur Absicherung des negativen Ergebnisses angewandt (z. B. Massenspektrometrie), kann auf eine Bestimmung der Nachweisgrenze verzichtet werden.

Infrarotspektrometrie (IR):

Für die Bestimmung der Selektivität der für das Untersuchungsziel infrage kommenden Analyten werden die jeweiligen Analyten und Gemische (z. B. Realproben bekannter Zusammensetzung oder synthetische Mischproben) vermessen und die Spektren bewertet.

Wird ein negatives Ergebnis allein aufgrund einer infrarotspektroskopischen Bestimmung für einen forensischen Befund ermittelt, muss die Nachweisgrenze des Verfahrens bekannt sein.

Die Nachweisgrenzen der zu detektierenden Analyten sind durch Messung von definierten Konzentrationen in praxisrelevanten Gemischen zu bestimmen. Wird ein empfindlicheres zweites Verfahren zur Absicherung des negativen Ergebnisses angewandt (z. B. DC oder Massenspektrometrie) kann auf eine Bestimmung der Nachweisgrenze verzichtet werden.

Gas- und Flüssigchromatographie (GC, LC):

Für die Bestimmung der Selektivität der für das Untersuchungsziel infrage kommenden Analyten werden die jeweiligen Analyten und Gemische (z. B. Realproben bekannter Zusammensetzung oder synthetische Mischproben) vermessen und die chromatographische Trennung beurteilt.

Wird ein negatives Ergebnis aufgrund einer gas- oder flüssigchromatographischen Bestimmung für einen forensischen Befund ermittelt, muss die Nachweisgrenze des Verfahrens bekannt sein.

Die Nachweisgrenzen verschiedener Substanzklassen sind exemplarisch durch Messung von definierten Konzentrationen praxisrelevanter Analyten zu bestimmen. Wird ein empfindlicheres zweites Verfahren zur Absicherung des negativen Ergebnisses angewandt (z. B. Massenspektrometrie) kann auf eine Bestimmung der Nachweisgrenze verzichtet werden.

Massenspektrometrische Analysenmethoden:

Für die Bestimmung der Selektivität der für das Untersuchungsziel infrage kommenden Analyten werden die jeweiligen Analyten gegebenenfalls nach vorheriger chromatographischer Trennung vermessen und die Spektren bewertet. Die Nachweisgrenze des MS-Systems muss bekannt sein. Auf Grund der Vielzahl der in Frage kommenden Analyten ist die Bestimmung der Nachweisgrenze für jeden einzelnen Analyten nicht durchführbar und praktikabel. Sie kann deshalb exemplarisch an Hand einzelner, praxisrelevanter Analyten (z. B. Testgemisch) bestimmt werden.

7.3.2 Quantitative Untersuchungsmethoden bei chromatographischen Verfahren

Die quantitative Bestimmung von Betäubungsmitteln erfolgt grundsätzlich mittels validierter Methoden. Sollte dies z. B. aufgrund der Beschaffenheit der Probe nicht möglich sein, kann von der Standardmethode abgewichen werden; es muss jedoch gewährleistet sein, dass das Ergebnis eindeutig gesichert ist.

Die Methodvalidierung muss folgende Parameter umfassen:

- Selektivität und Spezifität

Selektivität ist die Fähigkeit einer Methode, mehrere verschiedene, parallel zu bestimmende Komponenten ohne gegenseitige Störungen zu erfassen und sie eindeutig zu identifizieren.

Spezifität ist die Fähigkeit einer Methode, eine Substanz oder eine Substanzklasse ohne Ver-

fälschung durch andere in der Probe vorhandene Komponenten zu erfassen und sie somit eindeutig zu identifizieren.

- **Linearität der Kalibration**

Linearität: Die Linearität einer analytischen Methode ist ihre Fähigkeit, innerhalb eines gegebenen Bereiches Testergebnisse zu liefern, die direkt proportional zur Konzentration (Menge) des Analyten in der Probe sind. Arbeitsbereich Konzentrationsbereich, innerhalb dessen die Komponente nachweislich mit gegebener Präzision, Richtigkeit und definierter Kalibrierfunktion bestimmt werden kann.

- **Richtigkeit und Präzision**

Die Richtigkeit wird gewöhnlich in Form eines systematischen Fehlers (Bias) ausgedrückt. Unter Bias versteht man die Differenz zwischen Messergebnis und Sollwert. Er ist ein Maß für die systematische Fehlerkomponente eines quantitativen Analysenverfahrens. Unter Präzision versteht man den Grad der Streuung der einzelnen Werte um den Mittelwert. Sie ist ein Maß für die zufällige Fehlerkomponente eines quantitativen Analysenverfahrens. Wiederholpräzision ist die Präzision unter Bedingungen, bei denen unabhängige Messergebnisse mittels derselben Methode mit identischem Probenmaterial im selben Labor von derselben Person mit derselben Gerätschaft innerhalb kurzer Zeitintervalle erhalten werden. Unter Laborpräzision versteht man die Präzision bei der Bestimmung derselben Probe innerhalb eines Labors an verschiedenen Tagen bei bewusster Änderung mindestens eines Parameters (z. B. Person, Gerätschaft).

- **Nachweis- und Bestimmungsgrenze**

Die Nachweisgrenze ist definiert als die niedrigste Konzentration des Analyten in der Probe, bei der eine Identifizierung möglich ist. Die Ergebnisse, die im Bereich der Nachweisgrenze erhalten werden, sind nicht notwendigerweise quantitativ exakt. Die Bestimmungsgrenze ist die niedrigste Konzentration eines Analyten in der Probenmatrix, die mit akzeptablen Richtigkeits- und Präzisionsdaten bzw. mit einer vorgegebenen relativen Ergebnisunsicherheit bestimmt werden kann.

Gegebenenfalls kann zusätzlich die Robustheit eines Verfahrens durch gezielte Veränderung von einzelnen Parametern (wie z. B. Laborbedingungen, pH-Wert, Injektortemperatur, Lösungsmittel) geprüft werden, um die Verlässlichkeit des Verfahrens auch unter den geänderten Bedingungen zu belegen. Die Durchführung der Validierung sowie die Ermittlung der Validierungsparameter werden in geeigneter Form dokumentiert.

7.3.2.1 Selektivität und Spezifität

Bei der Analyse dürfen keine Interferenzen (z. B. störende Peaks) mit dem Untersuchungsziel auftreten. Für die Bestimmung der Selektivität und Spezifität gelten die gleichen Voraussetzungen wie bei der qualitativen Analyse mit chromatographischen Methoden.

7.3.2.2 Linearität

Vorgehen:

- Herstellung von Kalibratoren bei mindestens fünf von Null verschiedenen Konzentrationen (möglichst gleichmäßig über den Kalibrationsbereich verteilt) und sechs Bestimmungen bei jeder Konzentration. Ein Nullwert sowie „Forced to zero“ dürfen bei der Berechnung der Kalibrationsgerade nicht verwendet werden.
- Prüfung auf Ausreißer mit einem geeigneten statistischen Verfahren (z. B. Grubbs-Test).
- Prüfung der Linearität mit einem geeigneten statistischen Verfahren (z. B. Mandeltest).

Vor der Ablehnung eines linearen Kalibrationsmodells sollte die praktische Relevanz der Nicht-linearität z. B. an Hand der Richtigkeitsdaten bewertet werden; sind diese akzeptabel, kann trotzdem das lineare Modell verwendet werden.

Anmerkung: Bei langjährig bestehenden Verfahren wird auch ein Linearitätsnachweis mit weniger als fünf Konzentrationen, mindestens jedoch 3 von Null verschiedenen, als ausreichend betrachtet, wenn die Richtigkeit der Methode durch Ringversuche bestätigt ist.

7.3.2.3 Nachweis- und Bestimmungsgrenzen

Die Nachweisgrenze kann auf verschiedene Weise bestimmt werden:

- als die niedrigste Konzentration des Analyten, bei der das Signal-Rausch-Verhältnis mindestens 3:1 beträgt
- durch Bestimmung nach DIN 32645

Die Bestimmungsgrenze kann auf verschiedene Weise bestimmt werden:

- als die niedrigste Konzentration des Analyten, bei der das Signal-Rausch-Verhältnis mindestens 9:1 beträgt
- durch Bestimmung nach DIN 32645

7.3.2.4 Arbeitsbereich

Der Arbeitsbereich umfasst den Bereich der Bestimmungsgrenze bis zum höchsten Kalibrator der Methodvalidierung. Liegt die berechnete Bestimmungsgrenze unterhalb des kleinsten verwendeten Kalibrators, ist die untere Arbeitsbereichsgrenze durch den kleinsten von Null verschiedenen Kalibrator festgelegt.

7.3.2.5 Richtigkeit und Präzision

Die Richtigkeit kann durch Gegenmessung von Ringversuchsproben, von Proben mit bekanntem Reinheitsgrad oder mittels Vermessung mit absoluten Analysemethoden (z. B. NMR) bestimmt werden.

Wiederholpräzision und Laborpräzision können durch Mehrfachbestimmung (mindestens insgesamt achtfach, bei Laborpräzision an verschiedenen Tagen) unter Verwendung von geeigneten Statistikprogrammen (z. B. SQS, BEN, VALISTAT) bestimmt werden.

8 Mitgeltende Unterlagen/Literaturverzeichnis

1. DIN EN ISO/IEC 17025 und DIN EN ISO/IEC 17020 in der jeweils aktuellen Fassung
2. Richtlinie 4114 (4.04) über Maßnahmen zur Sicherung von Betäubungsmittelvorräten, Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) – Bundesopiumstelle
3. Kromidas, S. (1999) Validierung in der Analytik, Wiley VCH, Weinheim, 150
4. Rat der Europäischen Union Anlage 19.1 vom 23.3.2004 ("Empfehlung des Rates betreffend Leitlinien für die Entnahme von Proben sichergestellter Drogen")
5. Methods of Analysis/Sampling Seized Drugs for Qualitative Analysis, Scientific Working Group for the Analysis of seized Drugs (SWGDRUG) Recommendations Edition 6.0, 2011-07-07
6. Guidelines on Representative Drug Sampling, ENFSI/001 2002
7. Recommended Methods for Testing Opium, Morphin and Heroin, Manual for use by national drug testing laboratories/United Nation 1998
8. Richtlinien für die Probennahme und –aufarbeitung von Hanfpflanzen, Marihuana, und Haschisch. Empfehlung für die Analyse, Schweizerische Gesellschaft für RM 2001
9. Bekanntmachung bei der Probennahme und Kontrolluntersuchung zur Bestimmung des THC bei Nutzhanf, Bundesanstalt für Ernährung 1996
10. Guidelines on the Use of Reference Materials in Forensic Drug Analysis, ENFSI/002 2002
11. Methods of Analysis/Drug Identification, Scientific Working Group for the Analysis of seized Drugs (SWGDRUG), Recommendations Edition 6.0, 2011-07-07
12. IR-Spektrometrie, Helmut Günzler, Hans-Ulrich Gremlich, 4. vollständig überarbeitete aktualisierte Auflage 2003; ISBN 3-527-29381-7)
13. Handbook of Near-Infrared Analysis, DA Burns, EW Ciurcak, CRC Press, Third Edition, ISBN 978-0-8493-7393-0
14. Multivariate Kalibration – Ein praktischer Leitfaden zur Methodenentwicklung in der quantitativen Analytik, Jörg -Peter Konzen, Broschüre der Fa. Bruker
15. SOFT/AAFS Forensic Toxicology Laboratory Guidelines 2002
16. Guidance for Industry, MassSpectrometry for Confirmation of the Identity of Animal Drug Residues, Food and Drug Administration 2003

17. The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, EURACHEM Guide, 1st edition 1998, p. 21
18. Harmonized Guidelines for Singlelaboratory Validation of Methods of Analysis (IUPAC Technical Report), M Thompson, SLR Ellison, R Wood, Pure Appl. Chem. 2002 (74/5), p. 846
19. The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, EURACHEM Guide, 1st edition 1998, p. 36
20. Excel-Formular zur Berechnung der Messunsicherheit Version 1.6(T+K (2008) 75 (1):12).
Autoren: G. Schmitt, M. Herbold, F.T. Peters, S.W. Tönnies:
<http://www.gtfch.org/cms/index.php/menudownloads>
21. Nordtest Technical Report 537, Handbook for Calculation of Measurement Uncertainty in Environmental Laboratories, 2003-05
22. Quality Assurance/Uncertainty, Scientific Working Group for the Analysis of seized Drugs (SWGDRUG), Recommendations Edition 6.0, 2011-07-07
23. Leitfaden zur Angabe der Unsicherheit beim Messen, DIN V ENV 13005 (1999), Beuth Verlag, Berlin
24. Eurachem/CITAC, Leitfaden, Ermittlung der Messunsicherheit bei analytischen Messungen, 2003
25. Entscheidung der Kommission vom 12.08.2002 zur Umsetzung der Richtlinie 96/23/EG des Rates betreffend der Durchführung der Analysenmethoden und die Auswertung von Ergebnissen 2002/657/EG, Amtsblatt der EG