

Empfehlungen der Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie (GTFCh) zur Asservierung von Obduktionsmaterial für forensisch-toxikologische Untersuchungen

Bearbeitet von G. Skopp und L. v. Meyer unter Mitwirkung des Arbeitskreises Qualitätssicherung der GTFCh

Genehmigt vom Vorstand der GTFCh am 05.06.2004

1. Einleitung und Definitionen

Ziel forensisch-toxikologischer Untersuchungen an postmortal entnommenen Asservaten ist zu prüfen, ob Alkohol, Betäubungsmittel, Arzneistoffe oder andere Substanzen direkt oder indirekt als Todesursache anzusehen sind oder Handlungsunfähigkeit bzw. Aufhebung der Einsichts- und Steuerungsfähigkeit bewirkt haben. Hierfür ist eine geeignete Asservierung repräsentativer Proben eine zwingende Voraussetzung.

Begriffsdefinitionen:

- Asservat: Untersuchungsmaterial mit zugehörigem Behältnis
- Asservierung: sachgerechte Probennahme und -verwahrung

Eine Asservierung umfasst:

- Auswahl geeigneten Probenmaterials
- Probennahme zu einem geeigneten Zeitpunkt
- ausreichende Menge
- angemessene Entnahmetechnik
- adäquates Behältnis
- identitätssichere Kennzeichnung
- sachgemäße Aufbewahrung
- Verpackung, Versand oder Übergabe der Probe(n) mit Anforderungsbogen
- Registrierung im Labor, Zwischenlagerung bis zur Analyse
- Art und Zeit der Aufbewahrung von Restmaterial
- Entsorgung/Vernichtung der Probe(n)
- sowie eine lückenlose Dokumentation aller Teilschritte (chain of custody).

Die Obduzenten sind für eine zweckdienliche und korrekte Asservierung von biologischen Materialien verantwortlich.

2. Asservierung von forensisch-toxikologischem Untersuchungsmaterial bei Sektionen

Die Asservierung von postmortalen Untersuchungsmaterialien ist fallabhängig. In der Regel ist sie sehr viel umfangreicher und vielfältiger als bei lebenden Personen, unter Umständen (z.B. bei Ausblutung, fortgeschrittener Fäulnis, ausgedehnter Brandzehrung) müssen alternative Asservate gesichert werden (z.B. Muskulatur statt Blut). Die Proben sollen so asserviert werden, dass sie weitgehend repräsentativ für die Gesamtheit des Probengutes betrachtet werden können. Die Asservierung ist in einer Asservatenliste zu dokumentieren.

2.1 Untersuchungsmaterialien

Tab. 1 enthält die Untersuchungsmaterialien, die bei **allen Sektionen**, Sektionen **mit unklarer Todesursache** und bei **speziellen Fragestellungen** vor bzw. während der Leichenöffnung sichergestellt werden können. Den Empfehlungen sind die in den Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin „Die rechtsmedizinische Leichenöffnung“ (Leitlinien-

Register der Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Fachgesellschaften Nr. 054/001) angeführten Minimalanforderungen zur Asservierung biologischen Materials für toxikologisch-chemische Untersuchungen zugrunde gelegt [1].

Tab. 1. Untersuchungsmaterialien bei allen Sektionen, Sektionen mit unklarer Todesursache und speziellen Fragestellungen (siehe auch Tab. 2) [1-4]

Alle Sektionen	Zusätzlich bei Sektionen mit unklarer Todesursache	Bei speziellen Fragestellungen
----- Untersuchungsmaterialien, die vor der Leichenöffnung asserviert werden können -----		
Oberschenkelvenenblut, alternativ: Probe aus der Vena subclavia	Kopf- ersatzweise Körperhaare	Glaskörperflüssigkeit
Erbrochenes aus dem Umfeld		Liquor cerebrospinalis
Urin		Finger- und Zehennägel
		Haut- und Unterhautgewebe
		Haut- und Schleimhautabstriche
----- Untersuchungsmaterialien, die unmittelbar nach Eröffnung von Brust- und Bauchraum, Schädel, bzw. Organentnahme gesichert werden sollten -----		
Herzblut	Gallenblasenflüssigkeit	Muskulatur
Mageninhalt	Leber	Fettgewebe
	Lungen	Dünn-, Dickdarminhalt
	Gehirn	Herzbeutelflüssigkeit
	Nieren	Brusthöhlenflüssigkeit
		Knochen, -mark
		entomologische Species

Bei Intoxikationen, die viele Stunden oder mehrere Tage überlebt worden sind, empfiehlt sich eine umgehende Sicherstellung der in der Klinik vorhandenen Restproben an Körperflüssigkeiten durch die Ermittlungsbehörden. Die Asservierung von Fixerutensilien, Getränke- oder Tablettenresten, Behältnissen haushaltsüblicher Chemikalien und weiteren potentiellen Spurenrägern kann bei Vorliegen einer Intoxikation mit einer unbekanntem Substanz wesentliche Hinweise geben [2]. Bei Vergiftungen mit gasförmigen und flüchtigen Stoffen kann eine Asservierung von Luftproben oder Proben aus der vermeintlichen Quelle am Ereignis- bzw. Tatort dienlich sein [4].

2.2 Mengen und Hinweise

Die Auswahl und Menge der Asservate ist abhängig von den Fallumständen, ihrer Verfügbarkeit und den Erkenntnissen zur Todesursache. Es sollte vorsorglich eine vielseitige Asservierung erfolgen. Proben, für die eine ausreichende Datenbasis zur Interpretation der Ergebnisse zur Verfügung steht, sollten generell für die toxikologischen Untersuchungen bevorzugt werden (Tab.2).

Für die Mengen gibt es in der Literatur unterschiedliche Empfehlungen [1,2,4]. Die in Tabelle 2 aufgeführten Mengen sind als gängige Mengen anzusehen bzw. entsprechen eigenen Erfahrungen. Die Asservatmenge sollte so bemessen sein, dass:

- die erforderlichen Analysen vorgenommen werden können
- genügend Restmaterial für ergänzende Untersuchungen oder Wiederholungsuntersuchungen verbleibt.

Tab. 2: Untersuchungsmaterialien, Mengen und spezielle Hinweise [1,2,4-6]

Untersuchungsmaterial	Menge	Bemerkung
Oberschenkelvenenblut, alternativ: Probe aus der Vena subclavia	10-20 mL	für quantitative Analysen
Herzblut	50 mL oder Gesamtmenge*	für Suchanalysen
Mageninhalt	50 mL oder Gesamtmenge	Gesamtmenge wesentlich, bei sehr inhomogem Inhalt alles asservieren. Tabletten, Pflanzenbestandteile etc. gesondert asservieren
Urin	50 mL oder Gesamtmenge	für Suchanalysen, Immunoassays, bei extensiver Metabolisierung Hinweis auf Muttersubstanz erschwert
Organe (Gehirn, Leber, Lungen, Nieren, Muskulatur, Fettgewebe)	50 g	große Datenbasis für Konzentrationen in Lebergewebe, Lungen- und Gehirnproben bei gasförmigen und leichtflüchtigen Noxen; wenig Daten für Gehalte in Gehirn, Nieren und Fettgewebe bei lipophilen Substanzen und Narkosezwischenfällen, Proben von Nieren und rechtem und linkem Ventrikel bei Herzglykosidvergiftungen
Gallenblasenflüssigkeit	Gesamtmenge	geringe Vergleichsdaten, hohe Konzentrationen für viele Substanzen
Kopf-, Körperhaare Finger- und Fußnägel	bleistift dickes Bündel	Nachweis einer länger zurückliegenden oder länger anhaltenden Aufnahme von Drogen, Medikamenten oder Metallen, wenige Daten zu Nägeln und zu einem Vergleich der Konzentrationen in Körper-/Kopfhaaren
Glaskörperflüssigkeit	Gesamtmenge	Nachweis von z.B. Alkohol, Herzglykosiden, Cocain; Diabetesdiagnostik; wenig Vergleichsdaten zu Glaskörperflüssigkeit/Blut
Herzbeutelflüssigkeit	50 ml oder Gesamtmenge	auch zur immunchemischen Suchanalyse anstelle von Urin
Liquor cerebrospinalis	Gesamtmenge	
Haut- und Unterhautgewebe	ca. 2 x 2 x 1 cm ³	bei subkutaner Injektion (z.B. Insulin) und perkutaner Giftaufnahme, Entnahme einer Vergleichsprobe
Abstriche von Haut und Schleimhäuten		Klärung des Giftaufnahmeweges
Dick-, Dünndarminhalt	ggf. fraktioniert	Metall-, Pflanzen- oder Pilzvergiftung, Verdacht auf rektale Applikation
Brusthöhlenflüssigkeit	50 mL	bei Fäulnis
Knochen, -mark	ca. 3-5 cm lange Stücke, > 1 g	bei stark fortgeschrittenen Leichenveränderungen
Maden und andere entomologische Species		bei Fäulnis oder fortgeschrittenen Leichenveränderungen

* Gesamtmenge: maximal zu entnehmende oder noch vorhandene Menge

2.3 Entnahmetechniken

Jede Probe ist mit Einwegbestecken oder gereinigten, trockenen Bestecken zu entnehmen. Für die Entnahme von Körperflüssigkeiten können weitlumige Pipetten oder Spritzen mit Nadeln geeigneter Länge und Weite, für dickflüssiges Material Löffel oder Kellen, für Abstriche Tup-

fer, für Gewebe Skalpelle, Messer oder Scheren, für Gase sog. "Gasmäuse" oder gasdichte Spritzen verwendet werden [2,4].

Asservierungszusätze: Optimal sind eine mit Natriumfluorid (1-5%) versetzte Blutprobe und eine parallel asservierte Probe ohne Zusatz. Bei einer Alkoholbestimmung in Glaskörperflüssigkeit empfiehlt sich ebenfalls ein Zusatz von Natriumfluorid. Alle anderen Proben sollten ohne Additiva asserviert werden.

Blut: Oberschenkelvenenblut oder Blut aus anderen peripheren, venösen Gefäßen nach Präparation der Vene durch Punktion oder Schnitteröffnung; ggf. getrennte Probennahme aus rechter und linker Vene; Entnahme von Herzblut nach Eröffnung des Perikards durch Punktion oder nach Schnitteröffnung der Herzhöhlen.

Urin: durch Punktion oder nach Eröffnung des Bauchraums unter direkter Sicht aus der Blase.

Galle: durch Ausstreichen über dem Sammelbehältnis.

Aspiration mit einer Nadel nach Eröffnung des Bauchraums gelingt wegen des in der Regel hochviskosen Inhalts selten.

Cerebrospinalflüssigkeit: suboccipitale Punktion, oder - weniger empfehlenswert - nach Entfernung der Schädelkalotte durch eine Aspiration aus dem Hirnventrikelsystem oder durch lumbale Punktion.

Glaskörperflüssigkeit: nach Punktion der vorderen Augenkammer mit einer feinen Spritze, Ersatz der Glaskörperflüssigkeit durch eine entsprechende Menge isotonischer Kochsalzlösung.

Mageninhalt: Entnahme nach Eröffnung des Bauchraums, Abklemmen des Magens und Entleeren des Inhalts in ein Auffanggefäß, Dokumentation der Gesamtmenge. Verdächtige Materialien wie Tablettenreste, Pflanzenteile etc. sollten isoliert, getrocknet (z.B. auf Zellstoff) und gesondert aufbewahrt werden. Bei stark inhomogenem Inhalt ist eine Asservierung des gesamten Mageninhalts zu bevorzugen.

Organproben: getrennte Asservierung in separate Gefäße. Bei Vergiftungen unter Beteiligung gasförmiger oder leichtflüchtiger Substanzen sind Proben von Gehirn und Lungen sowie Blut sofort gasdicht zu asservieren, wenn möglich in abgewogene und gekühlte Glasgefäße. Getrennte Entnahme magennaher und -ferner Anteile der Leber bei penetrierenden Stoffen und Fäulnis.

Abstriche: Abreiben verdächtiger Haut- bzw. Schleimhautstellen mit einem Wattetupfer oder einem anderen, geeigneten Adsorbens; bei Drogentod auch an einer mit Kleidung bedeckten Stelle. Das Adsorbens kann ggf. mit Methanol oder einem anderen, geeigneten Lösemittel befeuchtet werden.

Haarproben: Entnahme vorzugsweise im Bereich der Hutkrempe am Hinterhaupt unter Ausparung von Regionen, die mit Blut, Erbrochenem oder Fäulnisflüssigkeit in Kontakt kamen, durch festes Abbinden eines bleistiftdicken Stranges, Abschneiden unter leichtem Zug direkt an der Kopfhaut. Länge der Haarstopeln an der Entnahmestelle dokumentieren. Feuchte Haare sind zu trocknen. Körperhaare mit Einwegrasierer oder Skalpell abtrennen. Empfehlungen zur sachgerechten Asservierung von Haaren sind bei Tiess [4] aufgeführt.

Knochenasservate: Spongiosaknochenspan (3-5 cm) z.B. aus dem Wirbelkörper und ein ca. 3-5 cm langes Stück aus dem Oberschenkelknochen.

Entomologische Species: Da Maden aufgenommene Drogen rasch wieder ausscheiden, sobald sie von der "Futterquelle" entfernt werden, sollten sie unmittelbar nach Sicherstellung kurz gewaschen und dann tiefgefroren werden.

Beweismaterial/Spurenräger aus dem Umfeld des Leichenfundortes: Getränke-reste, Restflüssigkeiten oder sonstige verdächtige Materialien sollten in bruch-sichere, dicht verschlossene Gefäße überführt und zusammen mit dem Originalbehältnis, jeweils getrennt verpackt, asserviert werden. Alle Feststoffe oder Behältnisse sollten getrennt und so verpackt werden, dass keine Verletzungsgefahr besteht. Gase oder Dämpfe können mit einer Gasmaus, oder, bei rascher Durchführbarkeit der Analyse, mit einer gasdichten Spritze asserviert werden. Alternativ kann das Gas aus der Spritze in ein Headspacegefäß überführt werden [2].

2.4 Behältnisse, Kennzeichnung, Protokollierung

Alle Behältnisse sollten nicht über 80% befüllt sein. Bei einer Asservierung in Headspacegefäße als Untersuchungsgefäße sollte der Dampf-raum über der Probe noch ca. 90-95% des Gefäßvolumens betragen.

Alle Gefäße sollten bruch- und auslaufsicher sein, es sind Einwegbehältnisse zu verwenden. Glas ist ein inertes, Weichmacher-freies, allerdings nicht bruch-sicheres Material. Daher sollten Glasröhrchen in einem geeigneten Ständer stehen und für die Aufbewahrung und den Versand auslaufsicher verpackt werden. Zum Verschließen der Röhrchen sind geeignete Verschlüsse, am besten mit Tefloneinsätzen, zu verwenden. Bei Beteiligung leicht flüchtiger oder gasförmiger Substanzen ist eine Asservierung in Glasgefäßen erforderlich. Für Körperflüssigkeiten können auch Einmalröhrchen aus geeignetem Kunststoffmaterial wie z.B. Nalgene verwendet werden. Viele kommerziell erhältliche Gefäße aus Polycarbonat, Polyethylen oder Polypropylen mit sehr geringen Anteilen an Weichmachern sind für die Asservierung von Organproben geeignet.

Die Asservierungsbehältnisse sollten mindestens beschriftet sein mit:

- der Sektionsnummer oder einer anderen, identifizierenden Nummer
- dem Namen und Vornamen des Verstorbenen oder einer anderen, individualisierenden Bezeichnung
- der Art des Probenmaterials
- dem Datum der Asservierung

Sind von einem Asservat mehrere Proben vorhanden, sind die entsprechenden Behältnisse durchnummerieren. Alle Proben, mit Ausnahme der Haare und einer Probe des Schenkel-venenblutes, sollten zu einem Gebinde zusammengefasst und verpackt werden. Ein Gebinde sollte, mit Ausnahme der Angaben zu den Probenmaterialien, dieselben Angaben wie die individuellen Asservierungsbehältnisse enthalten.

Die Dokumentationsniederschrift der Asservierung sollte mindestens folgende Angaben enthalten [3]:

- Name der Obduzenten
- Name des Sektionsgehilfen
- Sektionsnummer, Name und Vorname des Verstorbenen oder analoge Bezeichnungen
- Datum der Asservierung
- Art der Probe, Entnahmestelle, Menge (geschätzt), ggf. Additiva
- Besonderheiten, die mit der Probe verknüpft sind (z.B. spezielle, gesundheitliche Risiken durch Infektionskrankheiten oder Chemikalien, Angaben zum Autolysegrad)
- Name und Gegenzeichnung der Person, die die Asservate nach Abschluss der Obduktion auf Vollständigkeit prüft
- Datum und Zeitpunkt der Versendung oder Weitergabe an das forensisch-toxikologische Labor.

2.5 Aufbewahrung, Transport, Übergabe und Vernichtung der Asservate

Die Proben sollten während der Entnahme und Verpackung bzw. vor der Aufbewahrung nicht unbeaufsichtigt bleiben und müssen sicher, d.h. unter Verschluss, aufbewahrt werden. Nur autorisiertes Personal darf mit dem Umgang und der Bearbeitung der Asservate betraut werden.

Die als Gebinde zusammengefassten Proben sollten bis zur Bearbeitung bei mindestens -18°C gelagert werden. Haarproben sind bei Raumtemperatur, eine Schenkelvenenblutprobe auch bei 4 °C zu lagern.

Ein eventueller Transport der Proben muss unter Aufrechterhaltung der Kühl- und Einhaltung der Gewahrsamskette den Sicherheitsvorschriften entsprechend erfolgen.

Die im Labor eingehenden Asservate sollten unmittelbar auf Vollständigkeit, Unversehrtheit und Tauglichkeit zur Untersuchung geprüft werden. Der Eingang sollte registriert und gekennzeichnet werden. Vermerke über Abweichungen sind in den Laborunterlagen zu dokumentieren. Jedes Gebinde sollte mit einer Identifikationsnummer versehen werden. Bis zur Bearbeitung und zum Abschluss der Untersuchungen sind die Proben so zu lagern, dass eine Kontamination ausgeschlossen ist und der/die Analyt/en sich in dem Untersuchungsmaterial möglichst nicht verändern. Sind aus einem Untersuchungsauftrag weitere Aufträge ableitbar, die nicht dem forensisch-toxikologischen Aufgabenspektrum zuzuordnen sind, sollte eine Absprache mit dem sachbearbeitenden Obduzenten erfolgen.

Für eine zielgerichtete, ökonomische Festlegung der erforderlichen chemisch-toxikologischen Analysen und für eine valide Interpretation der Resultate sollten folgende Informationen zur Verfügung stehen [3]:

- Untersuchungsauftrag in geschriebener oder elektronischer Version
- Name, Adresse und Telefonnummer des Auftraggebers
- Sektions- oder andere, interne Identifikationsnummer
- Name und Vorname des Verstorbenen bzw. individualisierende Bezeichnung
- Geburtsdatum des Verstorbenen
- Sektionsbericht
- Ermittlungsergebnisse
- Bericht des Notarztes
- Krankenbericht oder Angaben zur Medikation
- Entnahmestelle der Asservate
- Datum der Probenentnahme
- Zugabe von Additiva
- Probenmenge
- Risiko, das mit dem Handling des Asservates verbunden ist
- korrekte Beschriftung der Probe
- Dokumentation der Gewahrsamskette
- zeitliche Vorgaben zur Bearbeitung der Asservate.

Während der Analyse sollten alle Teilentnahmen hinsichtlich Menge und Verwendungszweck dokumentiert werden. Über die Untersuchungen selbst sollte ein nachvollziehbares Laborprotokoll geführt werden, aus dem die Namen der beteiligten Labormitarbeiter ersichtlich sind. Während der Durchführung der Untersuchungen ist darauf zu achten, dass sich der/die Analyt/e möglichst wenig verändern. Die nach Abschluss der Untersuchungen noch vorhandenen Restmengen können nach den Aufbewahrungsfristen gemäß den Verwaltungsvorschriften oder nach Überschreiten der mit dem Auftraggeber vereinbarten Zeitspanne vernichtet werden. Die Vernichtung der Asservate ist zu dokumentieren.

Literatur

- [1] AWMF-Leitlinien-Register Nr. 054/001: Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin: Die rechtsmedizinische Leichenöffnung. <http://www.awmf-leitlinien.de>
- [2] Karch SB (1998) Drug Abuse Handbook, CRC Press, Boca Raton
- [3] Skopp G (2004) Preanalytic aspects in postmortem toxicology. Forensic Sci Int (im Druck)
- [4] Tiess D (2003) Asservierung, Exhumierung, Thanatochemie. In: Madea B, Brinkmann B (Hrsg.) Handbuch gerichtliche Medizin, Bd. 2, Springer, Berlin, Heidelberg, New York
- [5] Baselt RC (2002) Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man, 6th ed., Biomedical Publications, Foster City
- [6] Ellenhorn MJ (1997) Ellenhorn's Medical Toxicology: Diagnosis and treatment of human poisoning, Appendix H. The poisoned patients and their laboratory "The Flanagan Tables", 2nd ed., Williams & Wilkins, Baltimore

Sitzung des Arbeitskreises Extraktion der GTFCh vom 01.04.2004 in Kirkel

T. Stimpfl, Wien, Vorsitzender des Arbeitskreises

Extraktion von Serum mit Chlorbutan

Eine Arbeitsvorschrift für Vergleichsuntersuchungen zur Extraktion von Testsubstanzen aus Serum und isotonischer Kochsalzlösung mit Chlorbutan wurde ausführlich diskutiert. Das vorläufige Endergebnis dieser Diskussion:

- 1 mL Serum bzw. 1 mL phys. Kochsalzlösung werden die zu untersuchenden Wirkstoffe in 50 Mikroliter methanolischer Lösung (z. B. fünfmal 100 ng in 10 Mikroliter) zugesetzt;
- 10 mg Natriumbicarbonat und 5,0 mL 1-Chlorbutan zugeben; 2 min. von Hand schütteln (sonst evtl. Emulsion);
- Phasentrennung durch kurzes Zentrifugieren;
- 4,0 mL 1-Chlorbutan abziehen und 100 ng Methaqualon in 10 Mikroliter Methanol zugeben;

Methaqualon kompensiert eventuelle, den Extraktionsvergleich verfälschende Faktoren der in den verschiedenen Labors eingesetzten unterschiedlichen Methoden (HPLC bzw. GC).

Validierungsversuch für Cannabinoide

Weitere Resultate zum Versuch der Validierung der Cannabinoide im Serum liegen vor. Es wurde berichtet, dass bei der Methylierung bessere S/N-Verhältnisse als mit Silylierung erreicht werden konnten. Es trat jedoch eine Störung bei THC 313/316 auf, weshalb folgende Ionen verwendet wurden: THC 328,285,245(331,288,248), 11-OH-THC 313, 314, 359 (316, 317, 361); THCCOOH 313, 357, 372 (316, 360,3 75). Eine Zusammenfassung der Daten und Veröffentlichung im Toxichem ist geplant.

Vergleich Polymerphase / Mischphase

Leberlyophilisate, die Morphin enthalten, werden von verschiedenen Teilnehmer des Arbeitskreises mit Misch- oder Polymerphasen extrahiert. Die Ergebnisse sollen hinsichtlich Wiederfindung von Morphin und „Reinheit“ der erhaltenen Extrakte bei der nächsten Sitzung diskutiert werden.

Verschiedenes

Fr. Dr. Getrud Rochholz wurde als neues Mitglied einstimmig im AK Extraktion aufgenommen.

Termine

Die nächste Sitzung soll im VCI in Frankfurt stattfinden; mögliche Termine: 5. oder 12. 11.2004.