

Ricarda Jantos

Dr. sc. Hum.

## **Vergleichende Bestimmung von Drogen und Medikamenten mit Einfluss auf die Fahreignung in Serum, Vollblut und Dried Blood Spots**

Promotionsfach: Rechtsmedizin

Doktormutter: Fr. apl. Prof. Dr. rer. nat. Gisela Skopp

Drogen und Medikamente werden im Rahmen der forensisch-toxikologischen Analytik häufig nach auffälligem Verhalten von Straßenverkehrsteilnehmern im Serum oder Vollblut bestimmt. Dazu ist die richterlich angeordnete Blutentnahme durch einen Arzt notwendig, die im Regelfall erst ein bis mehrere Stunden nach dem zu klärenden Ereignis erfolgt. Damit stellt die aus dieser Probe ermittelte Konzentration der betreffenden Substanz nicht den tatsächlichen Wert zum Vorfallszeitpunkt dar und es muss eine entsprechende Abschätzung erfolgen. Dazu werden häufig pharmakokinetische Daten, die an Plasma- oder Serumproben erhoben wurden, herangezogen. Um aus Vollblut bestimmte Konzentrationen entsprechend umrechnen zu können, ist die Kenntnis des B/S-Verhältnisses unerlässlich. Dazu fehlen jedoch für eine Vielzahl von Substanzen und ihrer wesentlichen Metabolite ausreichende Erkenntnisse bzw. ein geeignetes Modell zur Abschätzung des B/S-Verhältnisses.

Eine mögliche Option neben der Blutentnahme durch einen Arzt und den damit verbundenen Verzögerungen können Trockenblutproben (dried blood spots, DBS) darstellen, da sie auch von nicht-medizinischem Personal z.B. durch Kapillarblutentnahme aus der Fingerbeere gewonnen werden können. Neben der einfachen Probengewinnung bieten sie die Möglichkeit des Versandes auf dem normalen Postweg, stabilisieren labile Analyte und reduzieren das Infektionsrisiko. Eine direkt am Ort des Geschehens asservierte DBS-Probe enthält den Analyten in der Konzentration, die zum Zeitpunkt der Auffälligkeit vorlag.

Die vorliegende Arbeit befasst sich daher mit der Bestimmung des B/S-Verhältnisses und dem Vergleich einer Analyse von Vollblut- und DBS-Proben. Aus Blutproben wurden durch Aufbringen von 100 µL Blut auf Filterpapierkarten korrespondierende DBS und durch Zentrifugation die entsprechenden Serumproben hergestellt. Dabei wurden die in der forensischen Routineanalytik relevanten Substanzen Amphetamin, MDMA, Morphin, Hydromorphon, Fentanyl, Oxycodon, Risperidon, Alprazolam und Zopiclon in authentischen Proben untersucht, womit auch die interindividuelle Streuung bezüglich des Hämatokrits

berücksichtigt werden konnte. Die Analytik wurde durch die Bestimmung der pharmakologisch aktiven Metabolite von MDMA, Fentanyl, Oxycodon und Risperidon ergänzt. Weiterhin wurde Zopiclon, dessen Instabilität in Lösung sowie in dotierten und authentischen Vollblutproben nachgewiesen wurde, auf seine Stabilität in Vollblut und DBS untersucht, um die DBS-Methodik auch im Hinblick auf die Stabilität empfindlicher Substanzen bewerten zu können.

Für die Gehaltsbestimmungen wurden Extraktionen und Analyse mittels LC-MS/MS entweder modifiziert oder neu etabliert. Alle Methoden wurden nach der gültigen GTFCh-Richtlinie validiert. Aus den Vollblut- und Serum-Konzentrationen wurden die mittleren B/S-Verhältnisse sowie ihre RSD ermittelt. Die weitere Bewertung erfolgte mittels linearer Regression, Analyse auf Trends über den betrachteten Konzentrationsbereich, Berechnung von Akzeptanzgrenzen und Betrachtung der Ausreißer.

Der Vergleich der Vollblut- und DBS-Bestimmung erfolgte durch das mittlere B/DBS-Verhältnis und dessen RSD sowie Bland-Altman- und Mountain-Plots, lineare und Passing-Bablok-Regression.

Die B/S-Verhältnisse konnten für die meisten untersuchten Analyten mit einer RSD unter 15 % sowie Vollblut-Serum-Korrelationskoeffizienten von  $R > 0,90$  bestimmt werden. Ein Zusammenhang zwischen der Lipophilie einer Substanz und dem B/S-Konversionsfaktor konnte nicht nachgewiesen werden, es ergab sich jedoch eine Korrelation mit der Plasmaproteinbindung.

Beim Vergleich der Gehaltsbestimmungsmethoden aus Vollblut und DBS erwiesen sich DBS nach eingehender statistischer Analyse als äquivalent hinsichtlich der aus authentischen Proben ermittelten Ergebnisse. DBS waren Vollblutproben hinsichtlich der Matrixeffekte überlegen. Die teilweise niedrigeren Extraktionsausbeuten wirkten sich dabei nicht negativ auf die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen aus; im Zusammenhang mit dem verminderten Matrixeffekt resultierten gegenüber Vollblut vergleichbare oder höhere Prozesseffizienzen.

Für den instabilen Analyt Zopiclon konnte in DBS eine gegenüber Vollblut erhöhte Stabilität sowohl in dotierten als auch in authentischen Proben nachgewiesen werden. Daneben

konnte festgestellt werden, dass der Zerfall von Zopiclon zu ACP sowohl in Vollblut als auch in DBS in äquimolaren Mengen erfolgt und damit auch nach längeren Lagerungszeiträumen eine Abschätzung der Ausgangskonzentration möglich ist.

Die gewonnenen Daten zu den B/S-Verhältnissen können bei einer Abschätzung von Wirkstoffkonzentrationen in Vollblutproben generell und bei einer „Rückrechnung“ auf den Vorfallszeitpunkt hilfreich sein. Daneben konnte gezeigt werden, dass DBS auch im Rahmen der forensisch-toxikologischen Analytik eine wertvolle Probenmatrix darstellen, in der, wie für Zopiclon gezeigt, labile Substanzen besser stabilisiert werden können als in gekühlten Vollblutproben.