

Volker Auwärter
Institut für Rechtsmedizin, Uniklinikum Freiburg

Messunsicherheit und Grenzwerte

Einleitung

In der jüngeren Vergangenheit kam dem Thema der Messunsicherheit insbesondere im Zusammenhang mit dem Cannabiswirkstoff THC im Rahmen der Rechtsprechung zu § 24a StVG einige Aufmerksamkeit zu. Im vorliegenden Beitrag soll daher gezeigt werden, wie die bei der THC-Bestimmung zu erwartende Messunsicherheit ermittelt werden kann und in welcher Größenordnung sie in der Praxis liegt.

Bei dem Begriff des Grenzwertes kann zwischen „Wirkgrenzwerten“ und „analytischen Grenzwerten“ unterschieden werden. Während ein Wirkgrenzwert z. B. eine Blutkonzentration bezeichnet, ab der mit hoher Wahrscheinlichkeit mit einer verkehrsrelevanten Beeinträchtigung zu rechnen ist, versteht man unter einem analytischen Grenzwert die kleinste Konzentration, die noch mit einer vorgegebenen Sicherheit analytisch erfasst oder bestimmt werden kann.

Unter Messunsicherheit versteht man die Angabe einer möglichen Abweichung des Messergebnisses vom „wahren Wert“. So bedeutet beispielsweise eine erweiterte Messunsicherheit von 10 % (Erweiterungsfaktor $k = 2$), dass der „wahre Wert“ mit ca. 95%iger Wahrscheinlichkeit im Intervall Messwert ± 10 % des Messwertes liegt [1].

Die Messunsicherheit findet bei Wirkgrenzwerten Eingang, indem ein Zuschlag addiert wird, der einer geschätzten Messunsicherheit Rechnung trägt. Für die BAK wurde daher zum „Wirkgrenzwert“ von 1 mg/g, ab dem die Fahrsicherheit in der Regel erheblich beeinträchtigt ist, ein Zuschlag von 0,1 mg/g addiert. Bei Einhaltung der entsprechenden Richtlinien liegt die Messunsicherheit für die forensische BAK-Bestimmung im Konzentrationsbereich um 1 mg/g nämlich anerkanntermaßen unter 10 %.

Für die Drogen, die unter § 24a StVG fallen, gibt es abweichend von der Regelung zum BAK-Grenzwert (aktuell 0,5 mg/g) zurzeit noch keine wissenschaftlich abgesicherten Wirkgrenzwerte. Die Ermittlung solcher Grenzwerte ist im Falle illegaler Drogen aus unterschiedlichen Gründen erschwert.

Zum einen sind Feldversuche aufgrund der gesetzlichen Bestimmungen und ethischer Aspekte praktisch nicht durchführbar, außerdem spielen Gewöhnungseffekte bei diesen Drogen eine im Vergleich zum Alkohol noch größere Rolle und erschweren die Aufstellung einer Blutkonzentrations-Wirkungsbeziehung. Der Gesetzgeber hat daher entschieden, dass bereits der sichere Nachweis einer der in der Anlage zu § 24a StVG aufgeführten Betäubungsmittel im Serum zur Erfüllung des objektiven Tatbestandes ausreicht. Hier kommen die analytischen Grenzwerte ins Spiel, denn diese machen gerade eine Aussage über die Sicherheit eines Substanznachweises. Laborintern werden die analytischen Grenzwerte einer Messmethode meist in Form einer Nachweisgrenze (LOD, limit of detection) und einer Bestimmungsgrenze (LOQ, limit of quantification) ermittelt. Die Ermittlung dieser Grenzwerte kann auf unterschiedliche Arten stattfinden. Sie können z. B. aus den Kalibrationsdaten berechnet oder über das „Signal-Rauschverhältnis“ in einem Chromatogramm abgeschätzt werden [2]. Sie sind indirekt mit der Messunsicherheit verknüpft, was auch darin zum Ausdruck kommt, dass eine alternative Methode zur Ermittlung der analytischen Grenzwerte darin besteht, diejenige Konzentration zu ermitteln, bei der ein bestimmter Wert für die Präzision und die Richtigkeit erreicht wird.

Um einheitliche Voraussetzungen zu schaffen, gab es Bestrebungen, bundesweit verbindliche Grenzwerte einzuführen, um zu vermeiden, dass je nach untersuchendem Institut und der eingesetzten Methode unterschiedliche Grenzwerte zur Anwendung kommen. Von den untersuchenden Labors muss dann sichergestellt werden, dass alle Konzentrationen oberhalb dieser festgelegten analytischen Grenze auch mit der geforderten Sicherheit festgestellt werden können.

Bei einigen Substanzen muss hierbei Besonderheiten Rechnung getragen werden. Es sei hier nur auf die mögliche metabolische Bildung von Amphetamin bzw. Methamphetamin aus einigen Arzneistoffen [3, 4] oder die Einnahme morphinhaltiger Schmerzmittel bzw. größerer Mengen mohnhaltiger Lebensmittel [5] hingewiesen. Auch bei Cocain ergeben sich aufgrund der Hydrolyseempfindlichkeit dieser Droge ohne stabilisierende Zusätze (z. B. Natriumfluorid) Probleme [6], die zu dem Vorschlag führten, einen Grenzwert für das Hauptprodukt der Hydrolyse, das Benzoylecgonin, von 75 ng/ml im Serum anzusetzen. Bei dem Wirkstoff THC und seinen Metaboliten kann es als Folge der guten Fett-

löslichkeit der Cannabinoide nach mehrfachem Konsum zur Akkumulation in fettreichen Geweben kommen. Dies kann im Extremfall auch noch Tage nach dem letzten Cannabiskonsum zu messbaren Blutkonzentrationen führen [7], insbesondere wenn durch Einsatz moderner Messtechnik immer niedrigere Konzentrationen sicher erfasst werden können. Aus diesem Grund wurde durch die obergerichtliche Rechtsprechung in Bezug auf § 24a StVG ein Grenzwert von 1 ng/ml für THC im Serum festgelegt (vgl. BVerfG, 1 BvR 2652/03 vom 21.12.2004). Konzentrationen unterhalb dieser Schwelle führen nicht zur Erfüllung des objektiven Tatbestands. Da in der Entscheidung nicht explizit ausgeführt wurde, ob dieser Grenzwert bereits einen Sicherheitszuschlag enthält, der die Messunsicherheit gebührend berücksichtigt, kam es diesbezüglich in foro stellenweise zu Verunsicherungen. Inzwischen ist es aber Konsens, dass der Messwert 1 ng/ml ohne Abzug eines Messunsicherheitsbeitrages bereits genügt, um den objektiven Tatbestand zu erfüllen (z. B. OLG Schleswig, 1Ss OWi 119/06 vom 18.09.2006).

Material und Methoden

Zur Abschätzung der Messunsicherheit ist es sinnvoll, eine Einteilung in systematische Fehler (Richtigkeit) und zufällige Fehler (Präzision) vorzunehmen. Systematische Fehler führen zu einer festen Abweichung der Messwerte in eine Richtung, zufällige Fehler schlagen sich in einer höheren Streuung, also einer geringeren Reproduzierbarkeit, nieder. Bild 1 verdeutlicht diese Zusammenhänge.

Um die Messunsicherheit zu bestimmen, müssen diese beiden Fehlerarten quantitativ, z. B. in Form einer prozentualen Abweichung, abgeschätzt werden. Im Falle der Präzision gestaltet sich dies relativ einfach, indem aus den arbeitstäglich gemessenen Kontrollen der Präzisionsanteil der Messunsicherheit als einfache Standardabweichung geschätzt wird (Formel 1). Für die Richtigkeit bietet es sich an, in jeder Messserie ein zertifiziertes Referenzmaterial zu messen. Die Abweichung des Mittelwertes der bei der Messung dieses Materials erhaltenen Messwerte vom zertifizierten Sollwert ist dann ein Maß für den Richtigkeitsanteil der Messunsicherheit.

Im Falle von THC in Serum wie auch für viele andere Analyten sind solche Materialien allerdings nicht verfügbar, da die Substanzen in Serum teilweise nur sehr begrenzt haltbar sind. In diesen Fällen können Ergebnisse von Interlaborvergleichen oder so genannten „Ringversuchen“ (es wird eine größere Menge homogenen Materials mit einheitlicher Wirkstoffkonzentration an verschiedene Labors versendet und die nach Messung gemeldeten Ergebnisse werden statistisch ausgewertet; bei Erfüllung der Anforderungen wird ein Zertifikat erteilt) zur Abschätzung der Richtigkeit herangezogen werden [8]. Dazu wird zunächst aus den jeweiligen Abweichungen der eigenen Ringversuchsergebnisse vom Sollwert (dem Mittelwert der Ergebnisse aller Ringversuchsteilnehmer) eine Größe berechnet, die als Maß für die Richtigkeit der Bestimmungsmethode dient. Diese Größe wird RMS_{bias} genannt (für Root Mean Square of Bias). Für die Berechnung werden die jeweiligen Abweichungen quadriert, aufsummiert und durch die Anzahl der zugrunde liegenden Ringversuche geteilt, dann wird aus diesem Term die Quadratwurzel gezogen (Formel 2). Um die Unschärfe des Sollwertes zu berücksichtigen, wird die mittlere Standardabweichung aller Ringversuchsteilnehmer durch die Wurzel aus der mittleren Anzahl der Ringversuchsteilnehmer geteilt ($u(C_{ref})$, Formel 3). Durch Kombination von RMS_{bias} und $u(C_{ref})$ erhält man schließlich die Größe $u(bias)$, ein Maß für die Richtigkeit der

Bestimmungsmethode dient. Diese Größe wird RMS_{bias} genannt (für Root Mean Square of Bias). Für die Berechnung werden die jeweiligen Abweichungen quadriert, aufsummiert und durch die Anzahl der zugrunde liegenden Ringversuche geteilt, dann wird aus diesem Term die Quadratwurzel gezogen (Formel 2). Um die Unschärfe des Sollwertes zu berücksichtigen, wird die mittlere Standardabweichung aller Ringversuchsteilnehmer durch die Wurzel aus der mittleren Anzahl der Ringversuchsteilnehmer geteilt ($u(C_{ref})$, Formel 3). Durch Kombination von RMS_{bias} und $u(C_{ref})$ erhält man schließlich die Größe $u(bias)$, ein Maß für die Richtigkeit der

$$u(Rw) = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (c_i - \bar{c})^2} \cdot \frac{100}{\bar{c}} \quad \text{Formel 1}$$

c_i : Konzentration der i -ten Präzisionskontrolle

\bar{c} : Mittlere Konzentration der Präzisionskontrollen

n : Anzahl der verwendeten Präzisionskontrollen

$$RMS_{bias} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n bias_i^2}{n}} \quad \text{Formel 2}$$

$bias_i$: Abweichung des Messwertes vom Sollwert im i -ten Ringversuch

n : Anzahl der zur Berechnung verwendeten Ringversuchergebnisse

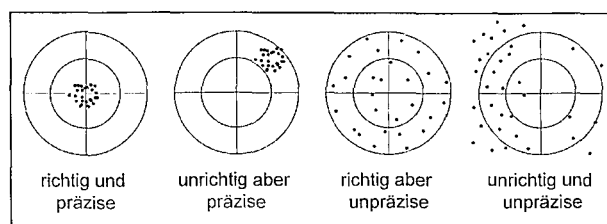


Bild 1: Illustration der Begriffe „Richtigkeit“ und „Präzision“

$$u(\text{Cref}) = \frac{\overline{SD}_{rel}}{\sqrt{m}} \quad \text{Formel 3}$$

\overline{SD}_{rel} : Mittlere Standardabweichung aller akzeptierten Ringversuchsteilnehmer
 m: Mittlere Anzahl der Ringversuchsteilnehmer

Bestimmungsmethode (Formel 4). Aus Richtigkeits- und Präzisionsanteil kann nun die Messunsicherheit abgeschätzt werden (Formel 5), die nach Multiplikation mit einem Erweiterungsfaktor k zur so genannten erweiterten Messunsicherheit führt (Formel 6).

$$u(\text{bias}) = \sqrt{\text{RMS}_{bias}^2 + u(\text{Cref})^2} \quad \text{Formel 4}$$

$$u(c) = \sqrt{u(\text{Rw})^2 + u(\text{bias})^2} \quad \text{Formel 5}$$

$$U = k \cdot u(c) \quad \text{Formel 6}$$

Ein Nachteil dieser Methode besteht darin, dass eventuell vorhandene systematische Fehler, die viele Teilnehmer z. B. methodenbedingt gleicher-

maßen machen, nicht berücksichtigt werden und zu Verzerrungen des Sollwertes führen können.

Um ein Bild von der aktuellen Messunsicherheit bei der Bestimmung von THC in Serum zu erhalten, wurden von 7 akkreditierten forensisch-toxikologischen Labors rechtsmedizinischer Institute die Daten zur Präzision und die Ringversuchsdaten der letzten Jahre erhoben.

Ergebnisse

Die nach der oben beschriebenen Methode ermittelten Ergebnisse der 7 erfassten Labors sind nach Vereinheitlichung der Datengrundlage in Tabelle 1 zusammengestellt. Die mittlere erweiterte Messunsicherheit für die THC-Bestimmung liegt bei ca. 33 %, d. h. bei einem Messwert von 1 ng/ml liegt der „wahre Wert“ mit ca. 95%iger Wahrscheinlichkeit im Intervall zwischen 0,67 und 1,33 ng/ml. Dieses Ergebnis belegt, dass die verwendete Analytik geeignet ist, bei Konzentrationen um 1 ng/ml einen sicheren Substanznachweis zu führen. Es ist erkennbar, dass bei der THC-Bestimmung im Serum

	RM 1	RM 2	RM 3	RM 4	RM 5	RM 6	RM 7	Mittelwert
Präzision	7,8 %	3,1 %	2,6 %	8,2 %	3,6 %	13 %	14 %	7,3 %
RMS _{bias}	19 %	16 %	13 %	11 %	13 %	19 %	9,2 %	14 %
u(Cref)	2,6 %	2,9 %	2,9 %	3,0 %	3,0 %	2,8 %	2,9 %	2,9 %
u(c)	20 %	17 %	14 %	14 %	14 %	23 %	17 %	16 %
U (k = 2)	41 %	33 %	28 %	28 %	28 %	46 %	33 %	33 %

Tab. 1: Präzisionsdaten und aus Ringversuchsergebnissen berechnete Richtigkeitsdaten von 7 Labors akkreditierter rechtsmedizinischer Institute mit Angabe der resultierenden Messunsicherheiten

Ringversuch	Sollwert (MW aller Labors)	MW der akkreditierten Labors	Dotierter Wert	Anzahl RV-Teilnehmer	VK aller Labors	VK der akkreditierten Labors
BTMF 3/03	2,1 ng/ml	1,9 ng/ml	2,0 ng/ml	51	26 %	8 %
BTMF 1/04	2,2 ng/ml	2,6 ng/ml	2,5 ng/ml	56	18 %	6 %
BTMF 2/04	5,4 ng/ml	6,1 ng/ml	6,5 ng/ml	55	26 %	15 %
BTMF 3/04	4,6 ng/ml	4,7 ng/ml	4,0 ng/ml	60	20 %	11 %
BTMF 1/05	2,3 ng/ml	2,4 ng/ml	2,0 ng/ml	57	17 %	10 %
BTMF 2/05	6,5 ng/ml	6,4 ng/ml	6,0 ng/ml	54	31 %	11 %
BTMF 3/05	2,3 ng/ml	2,3 ng/ml	2,5 ng/ml	62	17 %	15 %
BTMF 1/06	2,0 ng/ml	2,0 ng/ml	1,8 ng/ml	61	20 %	16 %
BTMF 2/06	2,9 ng/ml	2,9 ng/ml	2,7 ng/ml	55	24 %	18 %
BTMF 3/06	1,4 ng/ml	1,4 ng/ml	1,2 ng/ml	57	21 %	19 %

Tab. 2: Partielle statistische Auswertung der letzten 10 Ringversuche mit Vergleich der Mittelwerte und Variationskoeffizienten (relative Standardabweichung, VK) aller Ringversuchsteilnehmer und der 7 in dieser Erhebung einbezogenen akkreditierten Labors

in der Regel der Richtigkeitsanteil an der Messunsicherheit größer ist als der Präzisionsanteil.

Diskussion

Vergleicht man die Ergebnisse der hier erfassten akkreditierten Laboratorien (7 von aktuell 10 akkreditierten Labors bei insgesamt ca. 30 deutschen rechtsmedizinischen Instituten) mit der Gesamtheit der Ringversuchsteilnehmer (Tabelle 2), so zeigt sich hinsichtlich der Variationskoeffizienten der beiden Gruppen kein signifikanter Unterschied mit einer Tendenz zu etwas geringeren VK bei den akkreditierten Labors. Abgesehen von wenigen Ausnahmen decken sich auch die Mittelwerte der beiden Gruppen gut, sodass davon ausgegangen werden kann, dass das für die Auswertung der Ringversuche praktizierte Verfahren, nicht vom dotierten Wert, sondern vom Mittelwert aller Teilnehmer als Sollwert auszugehen, nicht zu wesentlichen Verzerrungen führt.

Literatur

- [1] E. HUND, D. MASSART, J. SMEYERS-VERBEKE: Operational definitions of uncertainty. Trends in analytical chemistry 20 (2001:): 394-406
- [2] DIN 32645 (1994) Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze
- [3] F. MUSSHOF: Illegal or legitimate use? Precursor compounds to amphetamine and methamphetamine. Drug Metab Rev 32 (2000): 15-44
- [4] J. CODY: Precursor medications as a source of methamphetamine and/or amphetamine positive drug testing results. J Occup Environ Med 44 (2002): 435-450
- [5] H. ANDRESEN, A. SCHMOLDT: Führt der Verzehr von Mohnsamen zu positiven Opiat-Befunden in Urin, Blut und Haaren? Blutalkohol 41 (2004): 191-202
- [6] S. TOENNES, G. KAUERT: Importance of Vacutainer Selection in Forensic Toxicological Analysis of Drugs of Abuse. J Anal Tox 25 (2001): 393-343
- [7] G. SKOPP, B. RICHTER, L. PÖTSCH: Cannabinoidbefunde im Serum 24 bis 48 Stunden nach Rauchkonsum. Arch Kriminol 212 (2003): 83-95

[8] Nordtest-Report TR 537 (2004)

Kontakt

Dr. rer. nat. Dipl.-Chem. Volker Auwärter
Institut für Rechtsmedizin,
Universitätsklinikum Freiburg
Albertstraße 9
79104 Freiburg im Breisgau