

第 8 回法医中毒研究会セミナー

薬毒物検査を実施する機関に求められるもの

平成 31 年 3 月 15 日 (金)
13:30～

島津製作所 関西支社
大阪市北区芝田 1 丁目 1-4
阪急ターミナルビル 14 階



世話人 Brian Waters
福岡大学医学部法医学教室

第 8 回法医中毒研究会セミナー

「薬毒物検査を実施する機関に求められるもの」

目次

第 8 回法医中毒研究会セミナー開催にあたって	2
プログラム	3
参考資料	
1. 法医中毒登録薬物検査機関規程（案）	5
2. 法廷のための血中アルコール濃度測定指針	7
3. ヘッドスペースガスクロマトグラフィー（FID）による エチルアルコールの定量（ザルツブルグ大学法医学研究所）	12
抄 録	
1. 法医中毒登録薬物検査機関について	16
久保 真一（福岡大学医学部法医学教室）	
2. 薬物検査機関アンケートのまとめ	22
矢島 大介 先生（国際医療福祉大学）	
3. アルコール検査の精度管理	31
Prof. Thomas Keller 先生（ザルツブルグ大学医学部法医学教室）	

平成 31 年 3 月 15 日

法医中毒研究会会長 久保 真一

第 8 回法医中毒研究会セミナー開催にあたって

法医中毒研究会では、日本法医学会全国集会時に、法医鑑定における薬毒物分析に関連した事例について幅広く議論する勉強会を開催しております。それと並行して、薬毒物分析マニュアルに即して、薬毒物分析業務全般から各物質の分析方法に至るまでより実践的、専門的に学ぶことを目的としたセミナーを定期的で開催しております。

第 8 回法医中毒研究会セミナーは下記の通り、世話人を福岡大学の Waters 先生にお願いし、大阪で開催いたします。本セミナーでは「薬毒物検査を実施する機関に求められるもの」というテーマでザルツブルグ大学のケラー教授に「アルコール検査の精度管理」についてご講演頂きます。併せて、現在、法医学会法医中毒ワーキンググループで検討中である「法医中毒登録薬物検査機関」について会員の皆様に紹介するとともに、「薬物検査機関登録への今後の予定」についても説明させていただきます。

法医中毒研究会では、死因究明のための薬毒物分析の充実、発展を目指して、薬毒物検査マニュアルの整備、質量分析のデータベースの提供、薬毒物分析実施機関（人材・機器）の確保を目指して活動しております。これまで、薬毒物分析マニュアルに即して、薬毒物分析業務全般から各物質の分析方法に至るまでより実践的、専門的に学ぶことを目的としたセミナーを定期的で開催して参りました。今回は、薬毒物分析実施機関（人材・機器）の確保について、皆さまと一緒に考えてみたいと企画しました。

この機会に薬毒物分析実施機関（人材・機器）について理解を深め、業務の発展、改善等に役立ててくださればと思います。

第 8 回法医中毒研究会セミナープログラム

「薬毒物検査を実施する機関に求められるもの」

日 時： 平成 31 年 3 月 15 日（金） 13:30～16:30 頃

会 場： 株式会社 島津製作所 関西支社

大阪市北区芝田 1 丁目 1-4

阪急ターミナルビル 14 階

【開会の挨拶】 (13:30～13:40)

法医中毒研究会会長 久保 真一 先生（福岡大学）

【セミナー 前半】

座長 斉藤 剛 先生（東海大学）

1. 法医中毒登録薬物検査機関について (13:40～14:10)

久保 真一 先生（福岡大学）

2. 薬物検査機関アンケートのまとめ (14:10～14:20)

矢島 大介 先生（国際医療福祉大学）

質疑応答 (14:20～14:30)

【休憩】 (14:30～14:45)

【セミナー 後半】

座長 工藤 恵子 先生（九州大学）

Brian Waters 先生（福岡大学）

3. アルコール検査の精度管理 (14:45～16:15)

Prof. Thomas Keller 先生（ザルツブルグ大学）

質疑応答 (16:15～16:30)

【お知らせ・その他】 (16:30～)

情報交換会 (17:30～)

Cafenne (カフェーヌ)

大阪市北区芝田 2-5-12 長岡ビル B1F・1F

TEL 06-6372-5414

セミナー会場から徒歩 6 分程度、JR 大阪駅から徒歩 3 分



参考資料 1

法医中毒登録薬物検査機関規程（案）

第1条 法医中毒登録薬物検査機関で行う薬物検査は、法医解剖による死因究明のための薬物検査であり、剖検例から得られた血液、尿等の体液、胃内容、吐物、臓器、毛髪等を試料として行われる薬物検査（定性・定量）とする。

第2条 大学法医学教室（注1）に所属する日本法医学会会員は、登録薬物検査機関の登録を申請することができる。

第3条 登録薬物検査機関の登録を受けようとする大学法医学教室（注1）は、法医中毒登録薬物検査機関規程で定めるところにより、手数料を納付して、日本法医学会理事長（以下、理事長）に登録の申請をしなければならない。

第4条 理事長は、第3条の規定により登録を申請した大学法医学教室が、別表1に掲げる要件に適合しているときは、その登録をしなければならない。

区分	機械器具	実施者	人数
アルコール検査	1. ガスクロマトグラフ	1. 理科系の大学の過程を卒業した者で、博士の学位を有する者、またはそれと同等以上の者で、1年以上薬物検査の業務に従事した経験を有する教員であること。	2名 または 1名 (1名の場合は、実施者条件の1を満たす者)
薬物検査	1. 分光光度計（注2） 2. ガスクロマトグラフ 3. 高速液体クロマトグラフ 4. ガスクロマトグラフ質量分析装置 5. 液体クロマトグラフ質量分析装置	2. 理科系の大学の過程を卒業した後、1年以上薬物検査の業務に従事した経験を有する者であること。 3. その他、3年以上薬物検査の業務に従事した経験を有する者であること	

- 1) 機械器具条件4、5の設備のうち、両方を有している場合は、登録薬物検査機関A、いずれかのみを有している場合は、登録薬物検査機関Bとする。
- 2) 実施者条件1を有する者がいる場合は、登録薬物検査機関A、2、3の者しかいない場合は、登録薬物検査機関Bとする。
- 3) 次に掲げる薬物検査の信頼性の確保のための措置が執られていること。
 - ① 専任の管理者を置くこと（注3）。
 - ② 薬物検査の業務の管理及び精度の確保に関する文書が作成されていること。
 - ③ 毎年、分析精度管理検査を受審すること。
 - ④ 毎年開催される、法医中毒勉強会、法中毒セミナーのいずれかには参加すること。

- 2 登録は、次に掲げる事項を登録台帳に記帳して行う。

1. 登録年月日及び登録番号
2. 登録薬物検査機関である大学法医学教室の名称、代表者の氏名及び主たる事務所の所在地

第5条 登録検査機関の登録は、3年間とし、その更新を受けなければ、その期間の経過によって、その効力を失う。

2 第1条から前条までの規定は、前項の登録の更新について準用する。

第6条 登録検査機関は、第4条に掲げる事項に変更があつたときは、遅滞なく、その旨を理事長に届け出なければならない。

2 理事長は、別表1に掲げる要件を満たさなくなった場合は、その登録を取り消す。

注1：大学法医学教室と同一大学内の別の部署で薬物検査実施している場合は、個別に問合せ下さい。

注2：オキシメーターを含む

注3：機関の長を管理者とし、機関の長は、薬物分析の信頼性を担保できるようにする。

————— MEMO —————

参考資料 2

法廷のための血中アルコール濃度（BAC）測定指針

序文

1966 年、連邦衛生委員会では専門家による交通犯罪における血中アルコール濃度の定量に関する指針を策定した。その後、この指針は科学技術の状況に応じて、最高裁判所の判決により数回変更された。1997 年 10 月、指針は、ドイツの法医学会（DGRM）、交通医学会（DGYM）および毒物ならびに法化学会（GTFCh）によってさらに改定するよう勧告された。比較的緩い組織構造と報告の基準、および分析法の進歩により、ガイドラインは 2007 年に改訂された。現在、2007 年 9 月の指針（Blutalkohol 44、273-282）を基準にもう一度改定する必要がある。

1. 一般的な背景

血中アルコール濃度測定の目的は、法医学的目的のために、血中アルコール濃度の推定値を決定することである。以下の目的のために、用語「アルコール」はエタノール（エチルアルコール、CAS 64-17-5）を指すものとする。

アルコール濃度の測定には常に、アルコールデヒドロゲナーゼ（ADH）法およびガスクロマトグラフィー（GC）法を用いるか、あるいは 2 つの異なる GC 法を使用しなければならない。

どちらの分析方法も、別々の機器と独立した専任技術者を使って、独立した検査（分析）室で実行する必要がある。つまり、分析は検査（分析）室間をまたがって実行してはいけけない。各方法について、最初から測定が完了するまで、一人の人間によって行われなければならない。分業は許可されていない。測定値は手順の最後にのみまとめることができる。ただし、アルコール濃度の計算、評価および文書化は第三者によって行われる場合がある。

2. 契約当局および目的

契約当局は、裁判所、公的機関、その他の機関、または個人である可能性がある。血液試料は、それぞれ刑事訴訟法または民事訴訟法の関連規定に従って収集、あるいはインフォームド・コンセントの後に自主的に提出することもできる。

3. 試料試料の取り扱い

検査室は第 2 章に従って得られた血液試料を分析する。試料を受理した日付は文書化されなければならない。血液試料は 2 人の許可された人によって開梱されなければならない。この過程を記録する必要がある。試料、包装、ラベルおよび/または付随する文書の欠陥は慎重に文書化されなければならない。血液試料のラベルとそれに付随する文書は、一貫性を確認するために直ちに確認する必要がある。試料と一緒に送付された可能性のある契約当局の識別詳細および粘着ラベルは、目的通りに使用する必要がある。さらに、実験室内部の試料識別システムを使用することができる。

4. スタッフとスペースに関する要件

4.1 スタッフ

研究室の長は、科学または医学の学位（卒業証書、修士、国家試験または同等の学位）を取得する必要がある。法医学目的での分析を可能にするには、彼または彼女は対応する法医学的資格の証明を提供する必要がある（継続教育）。さらに、継続的な研修は、関連する研修コースへの定期的な参加によって裏付けられなければならない。技術担当者は、検査室分析の分野で資格のある職業訓練を受ける必要がある。法医学分析の分野におけるさらなる訓練の証明が提供されなければならない。

4.2 場所

血中アルコール濃度の分析は、特別に指定された検査室でのみ行うことができる。揮発性物質、特にアルコールを含む物質（イソプロパノールなどを含む）による血液試料、標準物質、試薬および実験装置の汚染の可能性を排除することが不可欠である。2つの分析方法は、2つの独立した別々の検査（分析）室で実行する必要がある。

5. 分析

5.1 一般情報

各方法は、2つの独立した値から小数点以下3桁までを決定するために使用する必要がある。そのため、検査（分析）方法ごとに同じ容量または重量の試料を2回分注する必要がある。どちらの方法も、通常の分析で使用する前に GTFCh 指針に従って検証する必要がある。ただし、水性検量物質の有用性を確認する必要はない。

5.2 GC 検査（分析）方法

5.2.1 一般情報

血中アルコール濃度のガスクロマトグラフ分析は、それぞれの研究室で確立された手順を用いて行われる。校正と品質管理は指針の6章と7章に従って行われなければならない。

内部標準物質として、血清／血漿中に通常は存在しない物質を血清／血漿試料に添加しなければならない。血清／血漿中に通常存在する物質との干渉は排除されるべきである。三級ブタノールは確立された内部標準物質である。質量分析による検出のためには重水素化エタノール（水素／重水素交換>2、重水素は酸素に結合していない）を使用しなければならない。

5.2.2 2種類の GC 検査（分析）方法

二つの GC

5.2.2 2種類の GC 検査（分析）方法

以下の基準が満たされる場合、2つの GC 検査（分析）方法は異なっているとみなされる。

- ・ 同じ検出器（たとえば水素炎イオン化検出器）を備えた2つの異なるシステム、ただし、エタノールと内部標準物質に対する相対保持時間が異なることを保証する2つの異なる極性カラムであること。予想される追加の物質（特に付随するアルコールおよび内因性の揮発性物質、例えばケトン）による妨害は事前の検証によって排除されなければならない。
- ・ 2つのシステムと2つの異なる検出器（例えば、水素炎イオン化検出器と少なくとも2つのイオンを記録する質量分析計）。

5.3 ADH 法

血中アルコール濃度の酵素的測定は、それぞれの研究室で確立された方法を用いて行われる。校正と品質管理は指針の第 6 章と 7 章に従って実行されなければならない。除タンパクが必要な場合（全血、溶血性血清/血漿の場合）は、同じ方法で 2 回行わなければならない。除タンパクした 1 つの試料からの複数回の分析は認められない。回避効果が発生しないようにする必要がある。さらに、除タンパクを伴ういかなる方法についても、別個の検証を実施しなければならない。

6. キャリブレーション（検量線）

検量線にはエタノール水溶液が使用されるが、その内容は製造元が保証する必要がある。1 回または複数回の測定に最低 5 つの検量濃度を使用する。最低濃度は 1L あたり 0.20 : 1.00 : 2.00 および 3.00 g エタノールである。ADH 検査（分析）方法とは異なり、GC 検査（分析）方法のブランク値は、検量点として考慮されない。ADH 検査（分析）方法で除タンパクした試料の場合は、同様に処理した水の標準溶液を使用して検量線の作成を実行する必要がある。

一連の分析ごとに、3 つの対照試料（低濃度、中濃度、高濃度、第 7 章を参照）がすべて基準の範囲内でない限り、検量線作成をやり直す必要がある。基準の範囲内となったら、作成した検量線を使用することができる。

実試料の分析で最高の検量点（濃度）を超える値が得られた場合、希釈による結果を決定するための手順を確立する必要がある。希釈（例えば、等張食塩水による）は、両方の方法に対して別々に行われなければならないかもしれない。

7. 品質管理

7.1 対照試料の測定に関する一般要件

適切な血清/血漿試料は、検査室の内部品質管理に使用されなければならない。これらは、認証された対照試料、または製造元によって保証されている基準濃度と信頼範囲を有する試料である。信頼範囲は最大許容値（7.2 章による）を超えてはいけけない。そして法医学目的のために血中アルコール濃度を定量するとき、必要ならば実験室それ自身によって基準を設ける必要があるかもしれない。対照試料は、元の試料の変動性を反映する。従って、できるだけ多くのメーカーの試料を対照として使用する必要がある。試験室で調整した試料は、アルコール分析の品質管理としては適切でない。

少なくとも 1 つの陰性対照および 2 つの異なる陽性対照（それぞれ $n=2$ ）を、分析の日毎または分析毎に分析しなくてはならない。陽性対照は低濃度（ ≤ 0.50 g / L 血清または ≤ 0.40 g / kg 全血）と途中で中間濃度（ $0.50 \sim 1.60$ g / L 血清または $0.40 \sim 1.29$ g）と高濃度範囲（ ≥ 3.0 g / L 血清または ≥ 2.43 g / kg 全血）を分析する。

分析毎において、対照試料は少なくとも 10 個の実試料（20 回の単一測定）の後に挿入されなければならない。各測定は対照試料で終わらなければならない。

すべての品質管理は評価され文書化されなければならない。手順ごとに 2 つの測定値を持つ管理記録用紙（表）を作成する必要がある。これを使用して、両方の方法の個々の結果を評価する。分析記録用紙（表）には、濃度および分析方法ごとに最低 1 組の値を入力する必要がある。

7.2 合格基準

7.2.1 対照試料

目標濃度（中心線）と最大許容偏差が管理記録用紙（表）に入力される。1.000 g / kg 以下の全血または 1.236 g / L の血清の目標濃度で ± 0.05 g / kg (0.062 g / L) の最大偏差が許容範囲内であると考えられ、> 1.000 g / kg 全血または 1.236 g / L 血清の最大許容偏差は $\pm 5\%$ である。

もし基準を超えた場合は、逸脱の原因を特定し、是正措置を講じる必要があり、必要に応じては、すべての管理措置を含む一連のテスト全体を繰り返す必要がある。この場合、試験報告書には反復試験分析の濃度のみを記入することができる。測定の不確かさは、GTFCh 指針に従って、必要に応じて決定することができる。

7.2.2 実試料

各試料について、2 種類の検査（分析）方法で個々の値の測定範囲を評価する必要がある。

平均分析値 ≤ 1.000 g / kg 全血または 1.236 g / L 血清の場合、最高値と最低値の間の最大差は 0.100 g / kg (0.124 g / L) が許容範囲である。平均分析値 > 1.000 g / kg 全血または > 1.236 g / L 血清の場合、最大許容範囲は 10%である。

8. 外部品質管理

外部の品質管理として、検査室は法医学的に関連する作業を網羅している法医学指針に従って少なくとも 4 つの外部品質管理試験に参加しなければならない。5 章で述べているように、品質管理試験の試料は通常の試料と同じ方法で分析する必要がある。従って選択する検査試料は血清または血漿となる。品質管理試験に参加した証明書はいつでも提出できるように用意しておかなくてはならない。

9. 血中アルコール濃度の算出と検査成績書

アルコール濃度の定量は、試料が得られるかぎりには血清／血漿中で行われる。試験報告書には全血中濃度が記入される。血清／血漿または全血中の水分含有量に従って、血中アルコール濃度は、血清または血漿アルコール濃度に基づいて得られた結果を係数 1.20 で割ることによって計算される。mg / mL または g / L のアルコール濃度を示す検量線溶液を使用する場合、濃度は、除数 1.03（血清の密度）を使用して、それぞれ mg / g または g / kg に変換する必要があります。したがって、全体の除数は 1.236 となる。

血清／血漿が得られない場合、分析は全血中で行われなければならない。密度（全血）を考慮に入れると、除数 1.06 を使用して mg / g または g / kg に変換する。ヘッドスペース法で希釈した試料を使用する場合（最低 4 倍希釈）、蒸気圧の上昇に対する補正係数を考慮する必要はない。

計算された全血中アルコール濃度は、小数点第 2 位以下にカットする必要がある。4 つの個々の濃度の平均値が計算され、小数点第 2 位以下を切り捨てる。

すべての個々の値およびそれらの平均値は「パーミル」（血液 1kg 当たりのエタノールのグラム数）で報告されなければならない。検量線の最低濃度より低い濃度（検出限界以上で検量点の最低濃度以下）が得られた場合は強調して示す必要があります。

試験報告書は、逸脱／異常を示し、分析が現行の指針に従って行われたこと、さらに外部品質管理試験に合格していることの証明書が分析時に利用可能であることを示さなくてはならない。

10. 文書の保存要件

すべての診断レポート、測定値プロトコル、および品質管理記録用紙（表）は最低 6 年間保存する必要がある。

11. 試料の保持

検査試料は、分析用の試料採取が終わった直後に閉じなければならない。実験室で受領した試料へのいかなる種類の物質の添加も許可されていない。血液試料はすぐに 4℃ の冷蔵庫に保管しなければなりません。追加分析または潜在的な付随物質の分析のために、血清/血漿は残りの試料から分離され、分析が完了後 -15℃ で可能な限り保存されるべきである。ラベリングを含むこの手順は、2 人目の人物の存在下で実施、確認、文書化する必要がある。法的に有効な指示で指定されていない限り、元の試料と分離された試料は少なくとも 2 年間保存する必要がある。監督義務が、検査室責任者に委ねられている。

12. データ保護

それぞれの契約当局も情報の所有者である。適切なデータセキュリティ対策を実施することによって、独立した第三者が保護された情報を受け取らないようにする必要がある。これは、BAC 値だけでなく、特定の人の試験材料が受理されたという事実についても同様である。すべての従業員は書面でデータ保護について知らされる必要がある。

13. 品質管理

研究所の長は、これらの指針の規定が常に遵守されていることを確認しなければならない。これには、法医学目的で DIN EN ISO 17025 の要件に準拠した品質管理システムの実装が必要である。

14. 発効

本指針は雑誌 Blutalkohol に掲載された日に発効するものとする。同時に、2007 年 9 月の指針は無効になる。以前に適用されたガイドラインに基づいてこれらの指針が発効する前に法医学目的で血中アルコール濃度を定量した人は誰でも、1 年の経過期間でそのような試験を実施し続けることができる。

参考資料 3

ザルツブルグ大学法医学研究所 中毒部門 標準操作マニュアル (SOP) ヘッドスペースガスクロマトグラフィー (FID) によるエチルアルコールの定量

内容：

1	目的	6.1	試薬と標準溶液の調整
2	試験の原理	6.1.1	THF 溶液（内部標準溶液）の調整
3	試験材料	6.2	検量線の作成
3.1	妨害要因	6.3	ピペット操作
3.2	保存	6.4	シーケンスの作り方
4	分析システム	6.5	結果の評価
4.1	分析装置ならびに据え付け	6.6	評価および公表基準
4.2	試薬、標準試料	7	本分析の限界
4.3	その他の消耗品	8	関連文書
5	Quality control	9	文献
6	試験方法		

1 目的

血清、全血、尿、体液ならびに水溶液中のエタノールを水素炎イオン化検出器付きヘッドスペースガスクロマトグラフィー (Headspace-GC-FID、装置 FT_GE_053、FT_GE_057 と FT_GE_064) で定性、定量することで、飲酒の確認あるいは非飲酒の証明を行う。

2 試験の原理

ガスクロマトグラフィー (GC) は、移動相および固定相への分布または吸着の繰り返しによる成分の分離に基づいている。移動相は常にガス、いわゆるキャリアガスで構成され、固定相は分離カラムである。

ヘッドスペース：サンプルオープンでガス状にされた分析物は分析システムに導入される。（一定時間後、分析物は溶液中と上の蒸気空間との間で平衡に達し、一定量のガスが自動シリンジによって GC へ導入される）。揮発性物質は、さらにカラムの材質との相互作用を受け、カラムに保持されて分離される。

分離カラムを通過した後、ガスの流れは FID（水素炎イオン化検出器）に入る。FID の原理は、2 つの電極間の（水素を燃料ガスとして使用して）オキシ水素炎の伝導率を測定することである。分析される物質は、キャリアガスの流れを介して水素炎に運ばれ、そこで熱的にイオン化される。イオン化中に放出された電子は（炎の周りの格子を介して）集められ、接続されたデータシステムによってピークとして記録され

る。得られたクロマトグラムはシグナルの時間経過を反映しており、各ピークは試験材料中に存在する物質を表す。ピーク面積は、それぞれの濃度を決定するために使用される。

3 試験材料

血清、全血、ホモジナイズした血液の塊、尿、その他の体液、水溶液、固体組織

3.1 妨害要因

腐敗試料の分析は妨害ピークの出現により難しい場合がある。

3.2 保存

FT_VA_002_PROB 参照：サンプルの確認と取扱いを中毒学教室に依頼すること。

4 分析システム

4.1 分析装置ならびに据え付け

FID 付き Head Space-GC システム

希釈装置

FT_AA_018_etoh 参照

4.2 試薬、化学製品、標準物質

蒸留水

Tetrahydrofuran (THF)

エタノール標準水溶液：0.1 – 0.2 – 0.5 – 1.0 – 2.0 – 3.0 – 4.0 – 5.0 q/L

Quality control (QC) sample: ACQ Science などで購入

4.3 その他の消耗品

20 mL ガラスバイアル

セブタム N20 付きクリンプキャップ

5 Quality control

1 回のシリーズの分析に正確さ(accuracy)と精密さ(Precision)を評価するために QC サンプル (Medichem 社あるいは ACQ サイエンス社のもの)を必ず分析する。陰性コントロールとしてブランク血清を分析する。

6 試験方法

6.1 試薬と標準溶液の調整

6.1.1 THF 溶液（内部標準物質）の調整

FT_AA_008 THF 溶液の調整を参照のこと

6.2 検量線の作成

検量線の濃度範囲：0.1 – 0.2 – 0.5 – 1.0 – 2.0 – 3.0 – 4.0 – 5.0 ‰エタノール
内部標準物質（THF）の濃度 0.04 q/L

エタノール濃度の測定には何も添加していない血清を用いる。

しかし、結果は 1.2 の除数を使用して全血中アルコール濃度に換算して報告する（法的に要求されているので）。そして、それは全血（91%）と血清（76%）の水分含有率の比に相当する。

検量線は、水溶液にエタノールをパーミル（‰、mq/q または q/kq）単位の濃度で添加したものをを用いて作成する。血漿の密度である 1.026（q/L から q/kq への転換）と上記全血の 1.2 の除数を考慮すると除数は 1.236 になる。

血清を用いて得られたエタノール濃度はソフトウェアの検量線の表に入力すると、ただちに全血中アルコール濃度に換算されて出力される。血清サンプルの結果は、もはや変換する必要はない。全血を用いて得られた結果は 1.16 倍、尿を含むすべての水溶液で得られた結果は 1.236 倍する。

血液が溶血している場合は、血清は分離せず全血のまま測定する。

EtOH in g/L	0.10	0.20	0.50	1.00	2.00	3.00	4.00	5.00
EtOH in ‰	0.0809	0.1618	0.4045	0.8090	1.6181	2.4271	3.2362	4.0453

6.3 ピペット操作の手順

200 µL の標準溶液または試験サンプルは 1000 µL の内部標準溶液（THF）と共に、20 mL のヘッドスペースバイアルにハミルトン Microlab 500 Series Dilutor（FT_BA_007 Micr Hamilton Microlab 使用説明書参照）を用いて導入する。

最初が検量線サンプル、続いて 0.5 q/L の対照試料、10 人分の患者の試料（n=2）、対照試料（1.1 あるいは 3.0 q/L, n=2）を分析する。測定の最後に対照試料（1.1 あるいは 3.0 q/L, n=2）と陰性試料としてブランク試料を分析する。対照試料の選択は、付加的である。

（work リスト FT_FB_039 ヘッドスペース-GC によるアルコールの定量参照）

6.4 測定結果の作り方

測定は、分析一覧に従って文書化される。その中にはロット番号、名前と試料の種類が含まれる。測定を始める前に、測定者名とデータ・パス（D：¥YYYY¥YYMMDD）を入力する。

6.5 結果の評価

クロマトグラフィー分析の完了後、データはピーク面積によって定量的に評価される。まず、自動プログラムによって実行された積分が正しいかどうか目で見えて評価する。基質による妨害成分が検出された場合は、ベースラインを手動で引き直す。それぞれの事例について得られた濃度は、対応するフォーム（FT_FB_010 アルコール判定）に手動で入力され、ケースファイルに追加される。

6.6 評価および公表基準

以下の条件が達成されると、分析結果が公表される。

- ・相関係数が 0.98 を超えている。
- ・それぞれの QC サンプルの濃度が指定された範囲内にある（「法医学的目的のための血中アルコール濃度の定量に関する GTFCh 指針」によって規定された範囲）
- ・分析対象物と内部標準物質の保持時間が仕様と一致している。

患者サンプル：

4.04‰を超えるサンプルは希釈して再測定する必要があるため、報告される値は <4.04‰である。

1.00‰以下の平均分析値では、最低と最高の個々の結果の間の最大許容差は 0.10‰です。

1.00 を超える分析値の場合、最大許容差は 10%です。

評価のために、2 種類の方法で得られた全血中アルコール濃度（n=4）を平均する。結果は、丸めなしで、小数点以下 2 桁で報告する。

7 分析法の限界

検証レポートを参照

8 関連文書

9 文献

————— MEMO —————



第8回法医中毒研究会セミナー
薬毒物検査を実施する機関に求められるもの

2019/3/15

法医中毒登録薬物検査機関 について

久保 真一
福岡大学医学部法医学教室

福岡大学
FUKUOKA UNIVERSITY

MeLT Japanese Association of
Medico-Legal Toxicologists

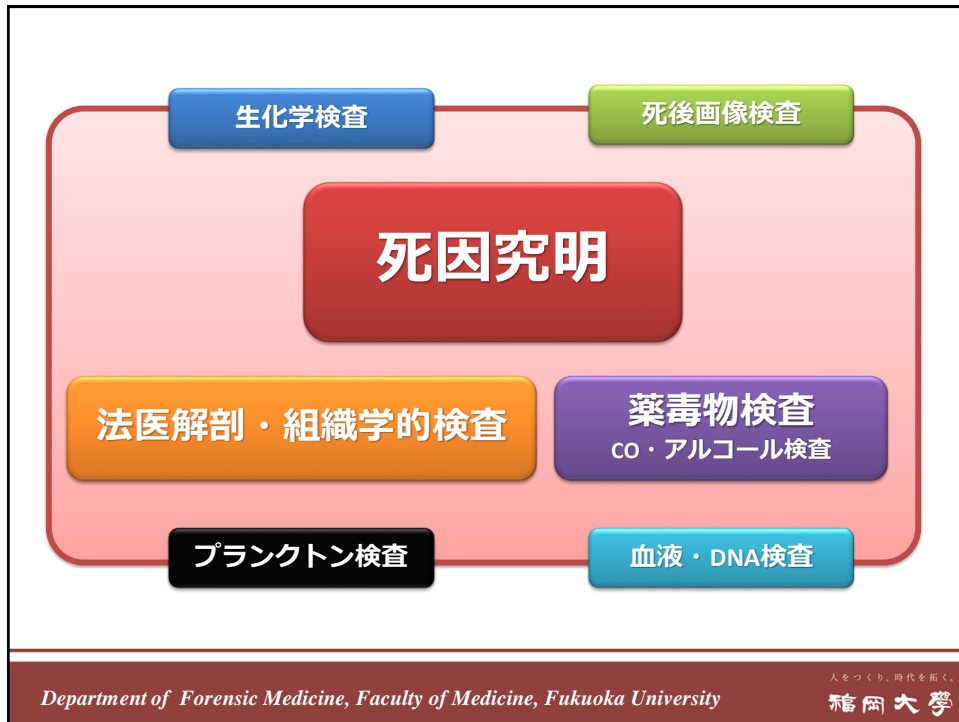


法医中毒研究会とは

死因究明制度の改革が本格的に動き出した現在、法医鑑定における薬毒物分析の重要性があらためてクローズアップされています。しかし、薬毒物分析を担う研究者の数は年々減少の一途を辿っており、このままでは新たな制度下での一定水準以上の薬毒物鑑定を実施することも危ぶまれる状況にあります。

日本法医学会では、これまで主に分析担当者を対象として、法中毒懇話会や法医中毒ワーキンググループ (FTWG)の活動により、各種情報交換や知識・技術の修得を図って参りました。この基盤に基づき、加えて従来に増して人材育成とともに分析技術や鑑定能力の向上が社会から求められることとなった現状に鑑み、法医認定トキシコロジストワーキンググループの提言を受けて、「新たな組織作り」が模索されることとなりました。こうした経緯のもと、平成23年度FTWG会議にて、当面の牽引役として投票で選出された5名のFTWG委員と教育研究委員長とで「新たな組織作り」について検討を重ねた結果、「法医中毒研究会 [Japanese Association of Medico-Legal Toxicologists: MeLT]」を立ち上げることといたしました。

2011年



死因究明 (Cause of Death Investigation)

法医解剖による、死因究明の質の保証 (Quality Assurance of Cause of Death Investigation through Forensic Autopsy)

1. 執刀医の確保 (Ensuring the Surgeon)
2. 執刀医の教育・研修 (Education and Training of the Surgeon)
3. 執刀医の資格 (Qualification of the Surgeon)
4. 解剖に伴う各種検査の実施 (Implementation of Various Examinations Accompanying Autopsy)

Below the list are images of several documents related to forensic medicine:

- A book titled **死因究明の実践** (Practical Cause of Death Investigation).
- A book titled **司法解剖標準化指針** (Standardization Guidelines for Forensic Autopsy).
- A document titled **認定証 久保真一** (Certificate of Recognition for Makoto Kubo), issued by the Japan Forensic Medicine Association.
- A document titled **認定証** (Certificate of Recognition) issued by the Japan Forensic Medicine Association.

At the bottom of the slide, the text reads: *Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, Fukuoka University* and **福岡大学** (Fukuoka University).

死因究明

法医学解剖・組織学的検査

薬毒物検査

司法解剖標準化指針

法医学認定医・指導医

法医学認定医研修施設

研究業績目録報告

解剖実績等報告

薬毒物検査マニュアル*

認定法医学トキシコロジスト

法医学中毒登録薬物検査機関

セミナー・勉強会の実施

分析精度管理検査を受審

Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, Fukuoka University

人をつくり、時代を拓く。
福岡大学

なぜ、**法医学中毒登録薬物検査機関**が必要なのか

死因究明を支える薬毒物検査体制の充実が叫ばれて久しい。

2008年に、薬毒物検査（分析機器検査・定性・定量検査）が、司法解剖に関わる検査（予算）項目となり、10年が経過した。

この間に、
薬毒物検査を支える、^{ヒト}人材・^{モノ}機器・^{カネ}検査料のうち、
検査料に支えられて**機器の充実**は図られてきた。
しかし、人材については、**正規常勤教職員の削減**が進みつつある。

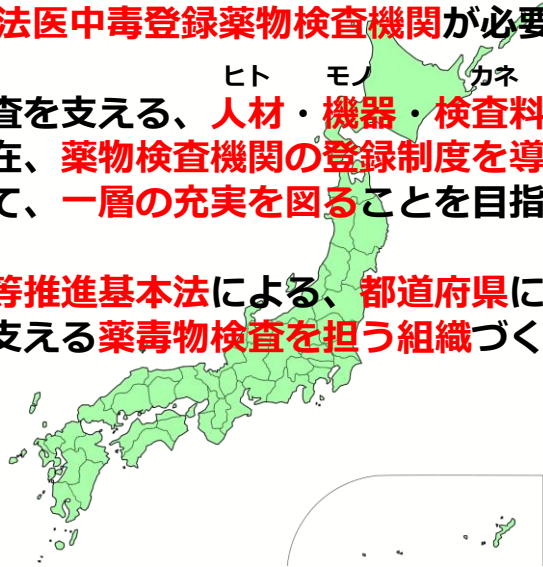
Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, Fukuoka University

人をつくり、時代を拓く。
福岡大学

なぜ、**法医中毒登録薬物検査機関**が必要なのか

薬毒物検査を支える、**人材・機器・検査料**が揃いつつある現在、**薬物検査機関の登録制度を導入し**、将来に向けて、**一層の充実を図る**ことを目指す。

また、**死因究明等推進基本法**による、**都道府県における死因究明を支える薬毒物検査を担う組織づくり**を目指す。



Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, Fukuoka University

人をつくり、時代を拓く。
福岡大学

法医中毒登録薬物検査機関

区分	機械器具	実施者	人数
アルコール検査	1. ガスクロマトグラフ	1. 理科系の大学の過程を卒業した者で、博士の学位を有する者、またはそれと同等以上の者で、1年以上薬物検査の業務に従事した経験を有する教員であること。	2名 または1名
薬物検査	1. 分光光度計（注2） 2. ガスクロマトグラフ 3. 高速液体クロマトグラフ 4. ガスクロマトグラフ質量分析装置 5. 液体クロマトグラフ質量分析装置	2. 理科系の大学の過程を卒業した後、1年以上薬物検査の業務に従事した経験を有する者であること。 3. その他、3年以上薬物検査の業務に従事した経験を有する者であること	（1名の場合は、実施者条件の1を満たす者）

Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, Fukuoka University

人をつくり、時代を拓く。
福岡大学

1. 機械器具条件4、5の設備のうち、両方を有している場合は、登録薬物検査機関A、いずれかのみを有している場合は、登録薬物検査機関Bとする。

登録薬物検査機関A

機械器具条件

- 4. ガスクロマトグラフ質量分析装置
- 5. 液体クロマトグラフ質量分析装置

登録薬物検査機関B

- 4. ガスクロマトグラフ質量分析装置
または
- 5. 液体クロマトグラフ質量分析装置

2. 実施者条件1を有する者がいる場合は、登録薬物検査機関A、2、3の者しかない場合は、登録薬物検査機関Bとする。

登録薬物検査機関A

実施者条件

- 1. 理科系の大学の過程を卒業した者で、博士の学位を有する者、またはそれと同等以上の者で、1年以上薬物検査の業務に従事した経験を有する教員であること。

登録薬物検査機関B

実施者条件

- 2. 理科系の大学の過程を卒業した後、1年以上薬物検査の業務に従事した経験を有する者であること。

3. 次に掲げる薬物検査の信頼性の確保のための措置が執られていること。

- ① 専任の管理者を置くこと（機関の長）。
- ② 薬物検査の業務の管理及び精度の確保に関する文書が作成されていること。
- ③ 毎年、分析精度管理検査を受審すること。
- ④ 毎年開催される、法医中毒勉強会、法中毒セミナーのいずれかには参加すること。



Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, Fukuoka University

人をつくり、時代を拓く。
福岡大学

分析精度管理検査

- ・ 試 料：血液および尿に、エタノールおよび医薬品等を添加した試料
- ・ 検 査：定性および定量検査を実施し、その結果を報告
- ・ 方 法：薬毒物検査マニュアルを参考に検査を実施する

法医中毒登録薬物検査機関については、現在、教育研究委員会、理事会で審議されています。制度の導入に備えて、各機関、各分析者には、制度への理解とともに、分析精度管理に備えることをお願いします。

Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, Fukuoka University

人をつくり、時代を拓く。
福岡大学

薬物検査機関アンケート結果の報告

日本法医学会 教育研究委員会 法医中毒ワーキンググループ
矢島 大介(国際医療福祉大学医学部法医学)

【目的】

- ◆ 研究教育機関及び監察医務機関における
薬毒物分析の現状把握
 - ・ 人員
 - ・ 実施状況
- ◆ 法医薬毒物分析の将来展望
 - ・ 人員確保
 - ・ 質の担保
 - ・ 認定資格(機関・分析者)

【概要】

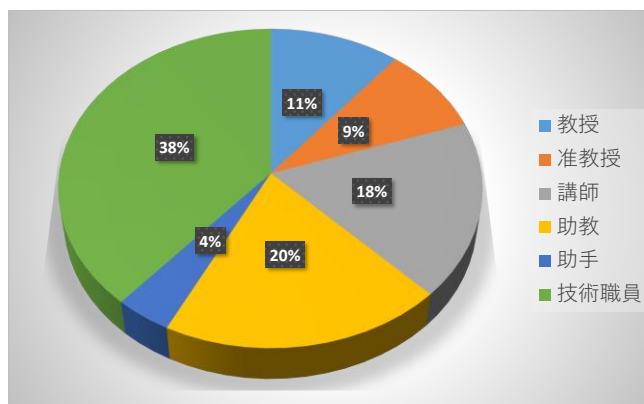
- ◆ アンケート実施時期：2019年2月
- ◆ 対象機関：全国92機関
 - ・ 大学法医学及び関連分野(90機関)
 - ・ 監察医務機関(2機関)
- ◆ 方法：各機関責任者にメール添付にてアンケートを依頼
- ◆ 回答機関：49機関(回収率53%)

【Q1 各機関の薬毒物分析の人員 1】

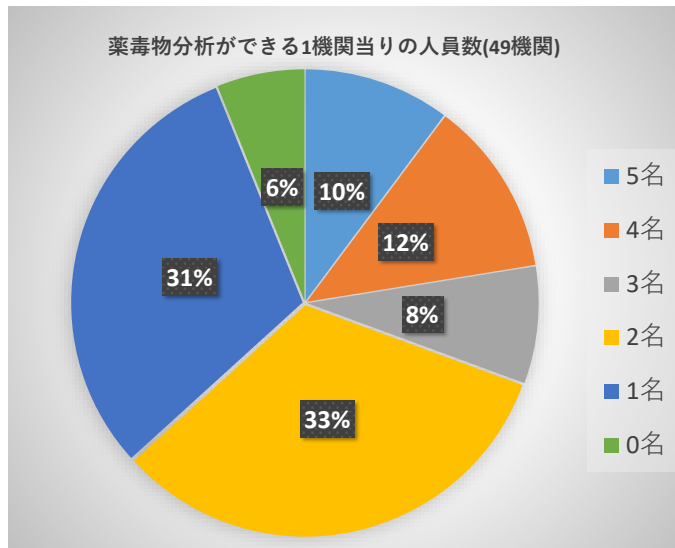
薬毒物検査ができる教職員

いる機関	46機関	技術職員のみ6機関
いない機関	3機関	

常勤・非常勤含めて108人と役職の内訳

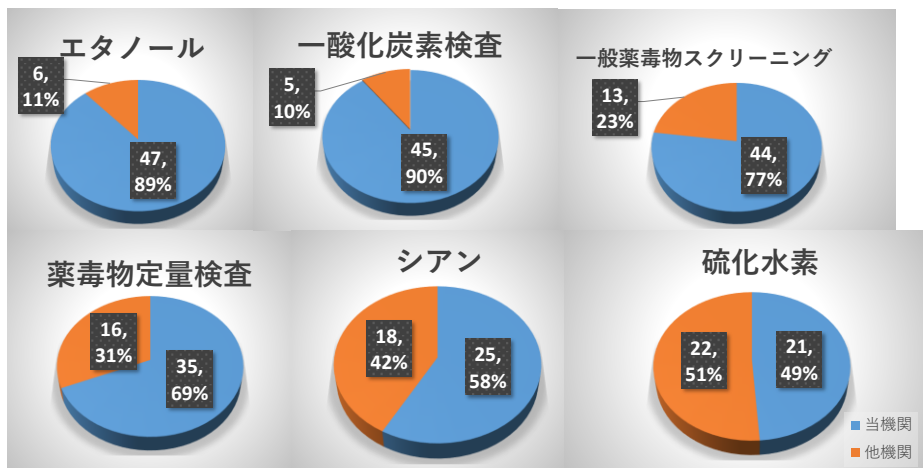


【Q1 各機関の薬毒物分析の人員 2】



※薬物分析の分析機器や物質、熟練度などは問わない。

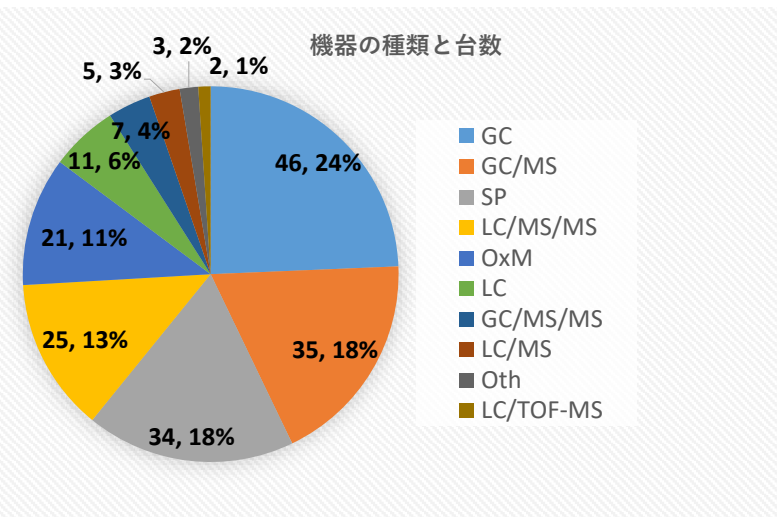
【Q2 各機関での薬物検査の実施状況について 自機関か他機関依頼か】



- 一定の基本検査は自機関で可能であるが、複雑な検査ほどその頻度は低下する。

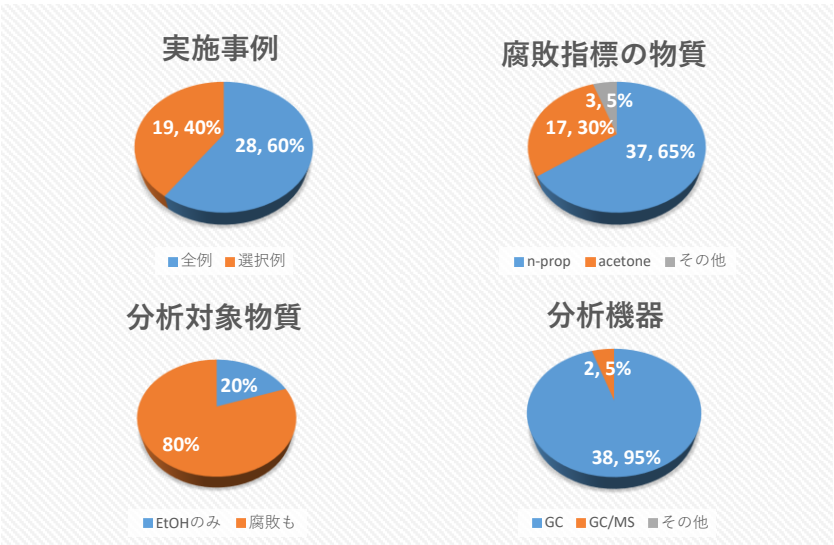
他機関への依頼
 ・ 20-30%程度が他大学
 ・ 70-80%が科捜研。

Q3 各貴機関で所有している薬毒物分析関連機器(49機関)



- GC,GC/MS、分光光度計は多くの機関が有している。
 - LC-MS/MSとオキシメーターも半数程度の機関が有し、普及してきている。
- ※分析者のいない機関も含む

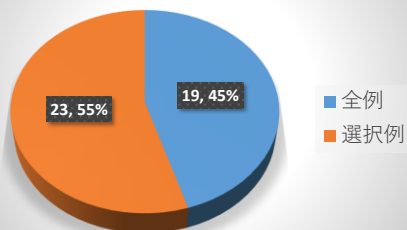
【Q4 エタノール検査について】



- 60%の機関で全例で実施
- 80%の機関で腐敗の指標となる物質も分析。
- 95%の機関はGCで分析し、ごく一部の機関はGC/MSを用いている。

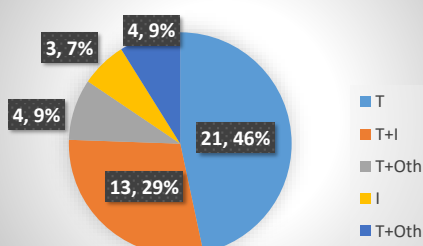
【Q5 解剖事例の一般薬毒物スクリーニング検査について 1】
簡易キット

簡易薬物検査実施例（42機関）



- 55%の機関で全例で実施

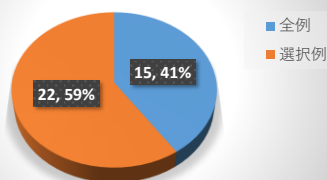
簡易キットの種類



- トライエージのみが46%
- トライエージとインスタビューが29%

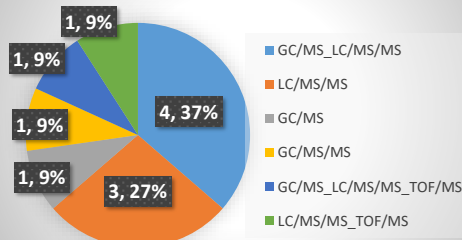
【Q5 解剖事例の一般薬毒物スクリーニング検査について 2】
大型機器を用いた検査

分析機器検査の実施例（37機関）

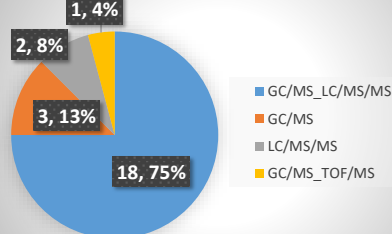


- 機器分析は59%の機関で事例を選択して行っている。

全例検査の使用機器

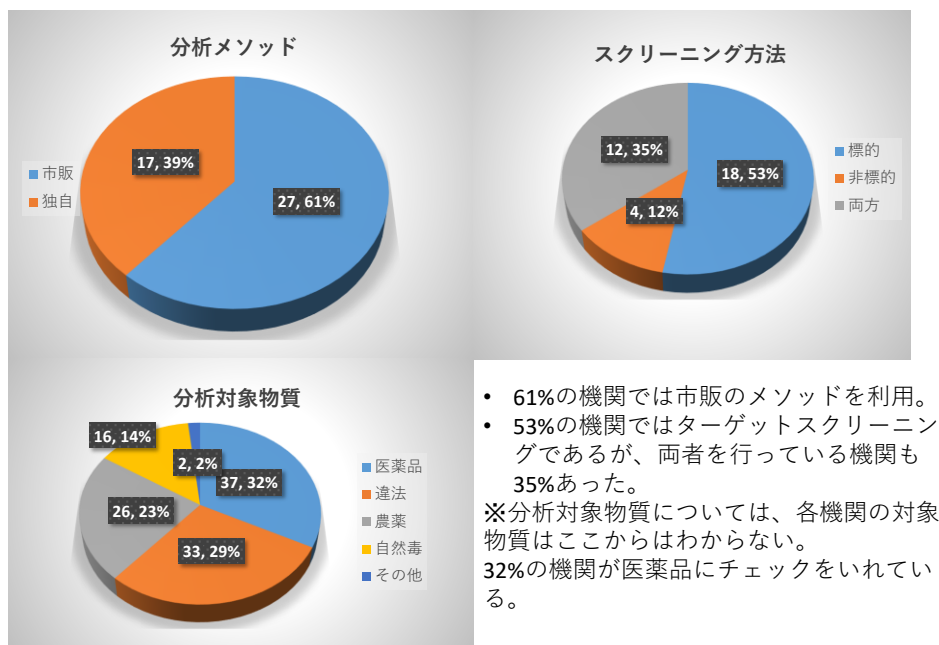


選択例



- 全例検査でも選択事例検査でもGC/MSとLC/MS/MSを用いて検査を行っている機関が多かった。
- ※ただし、2種の機器でダブルチェックを示しているものではない。

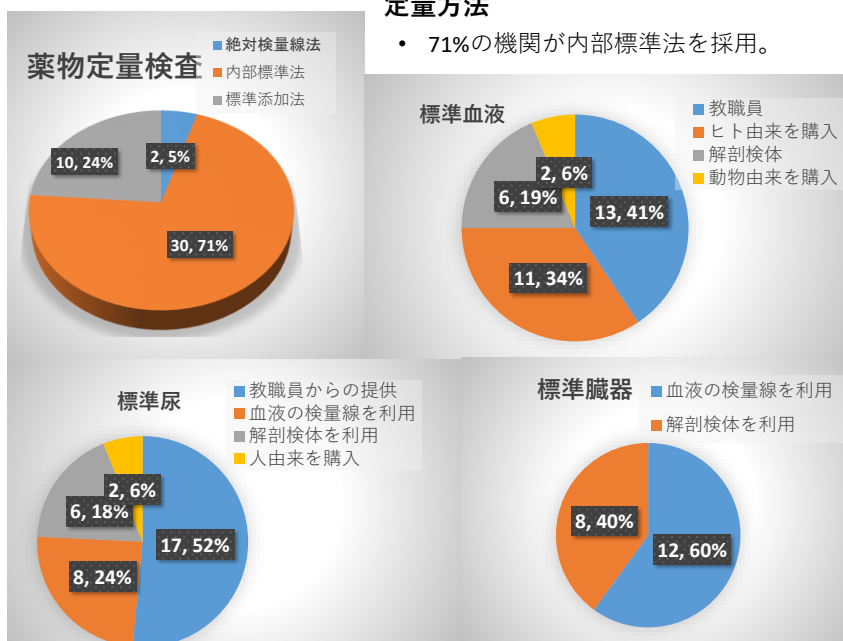
【Q6 大型機器を用いたスクリーニング検査について】



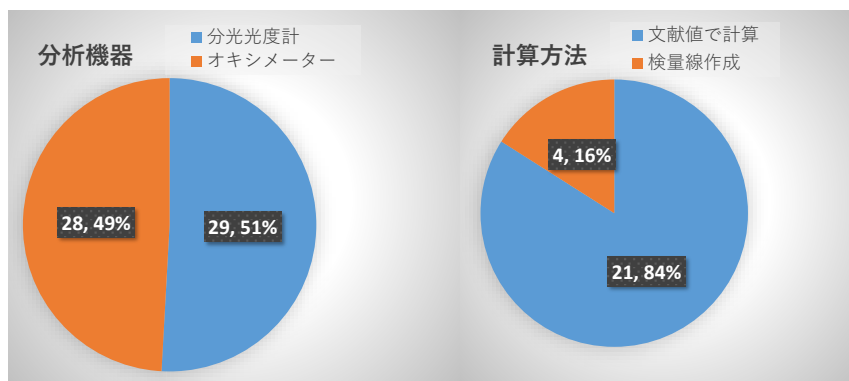
【Q7 薬物定量検査について 1】

定量方法

- 71%の機関が内部標準法を採用。

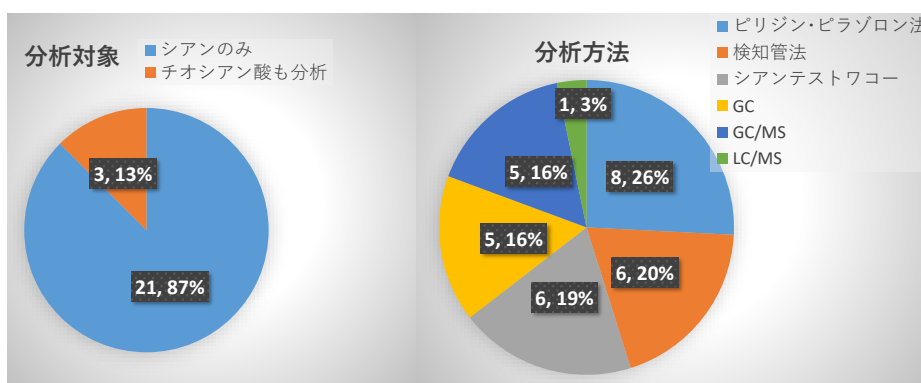


【Q8 一酸化炭素分析について】



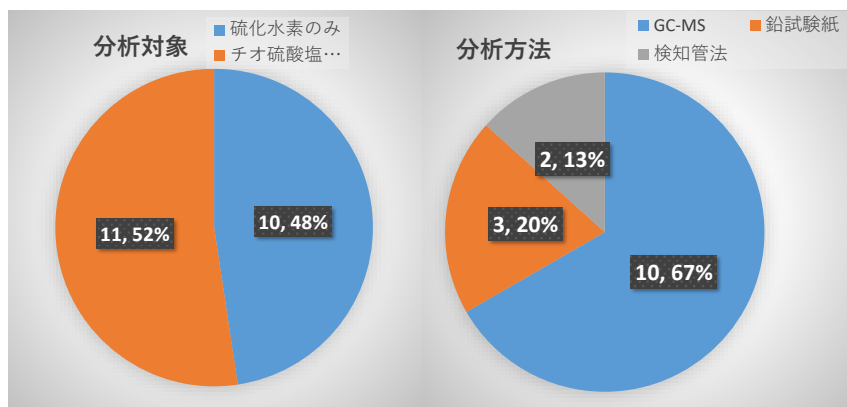
- ・ オキシメーターと分光光度計は約半数。
- ・ 分光光度計をもしいている場合、84%が文献値を利用。

【Q9 シアン分析について】



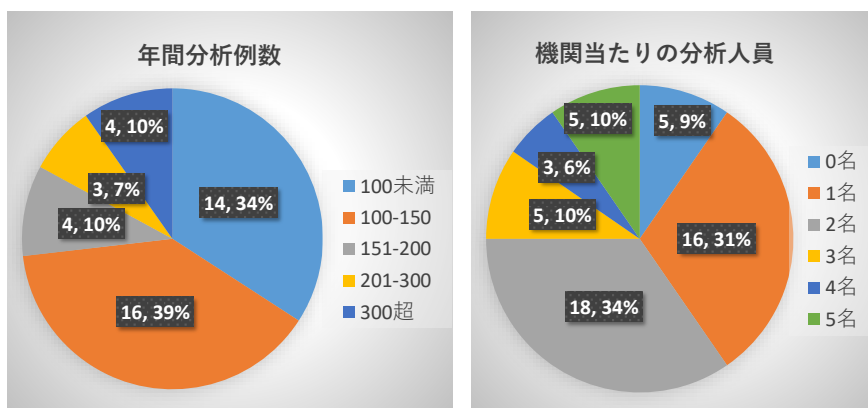
- ・ 13%の機関でチオシアン酸も分析。
- ・ 分析法はピリジン・ピラゾロン法が最多であるが、その他の方法も採用されている。

【Q10 硫化水素分析について】



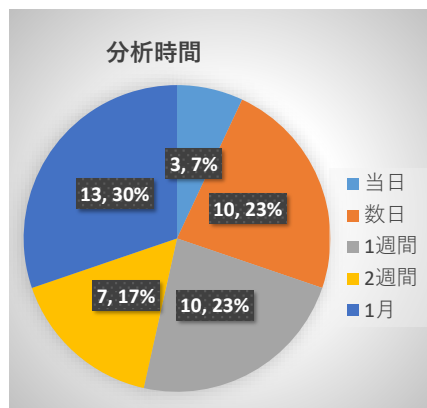
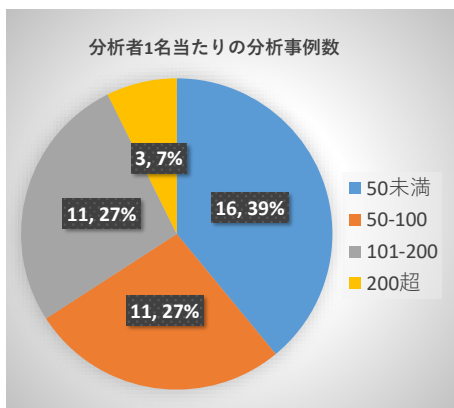
- 52%の機関でチオ硫酸塩も分析。
- 分析法は67%がGC/MSを用いていた。

【Q15 検査体制について 1】



- 年間分析例数は150例程度が73%を占めた。
- 例数の多い機関では660例、770例、1200例があった。
※分析の種類は問わない。
- 1機関当たりの分析人員は1, 2名が65%であった。
※教員、技術職員などは問わない。

【Q15 検査体制について 2】



- 分析者1名当たりの分析事例数は50例未満が最多で39%、100例台、200例台がそれぞれ27%であった。
- 最大は600例であった。

※分析の種類は問わない。

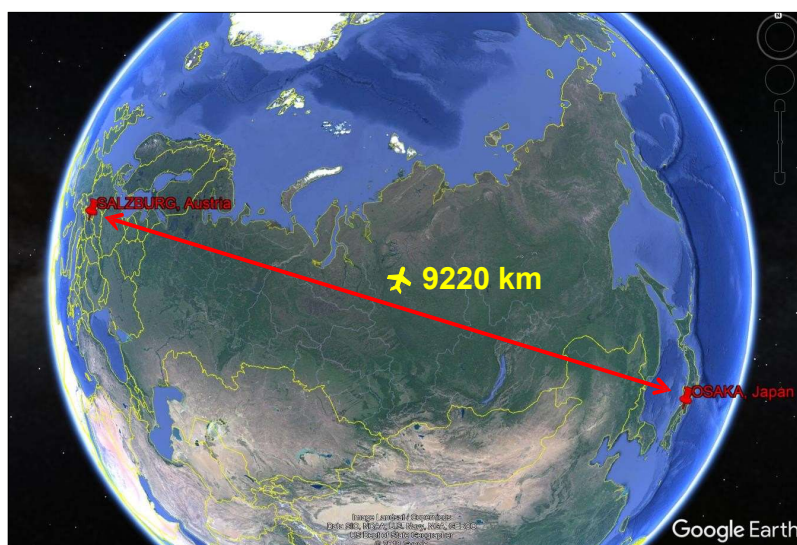
- 分析時間の最多は一月程度であった。
- 簡易検査、一酸化炭素などは当日の機関が多かった。

※簡易検査等、当日に行うことが多いものは除く。

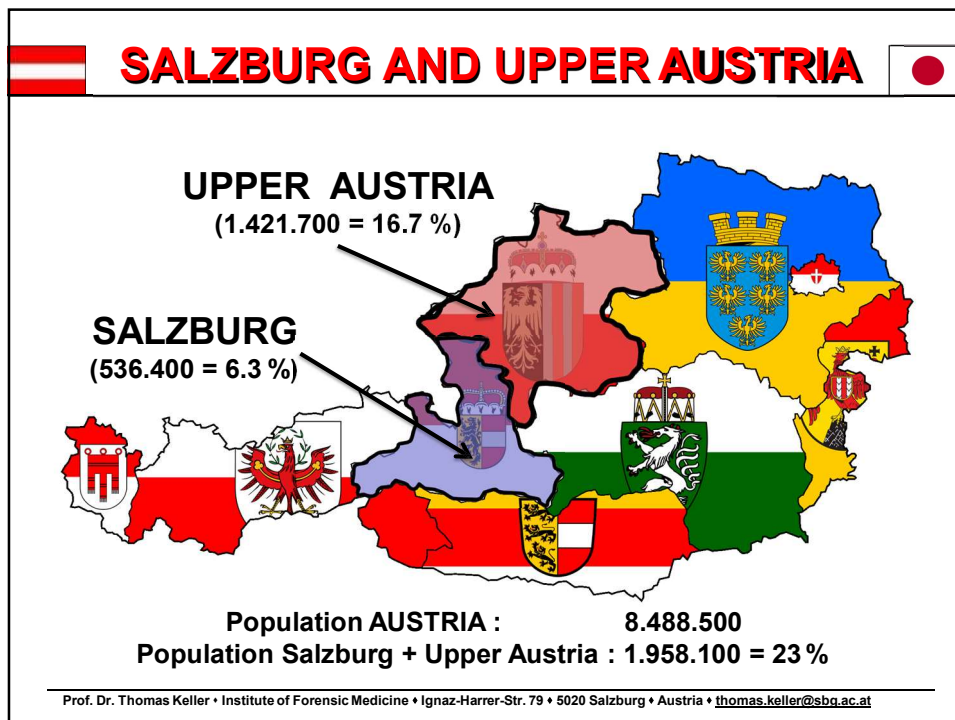


ETOH ANALYSIS IN ACCORDANCE WITH THE SOCIETY OF TOXICOLOGICAL AND FORENSIC CHEMISTRY (GTFCH) AND ISO 17025


Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbg.ac.at



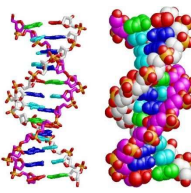
Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbg.ac.at



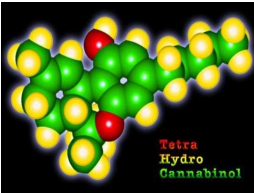
INSTITUTE OF FORENSIC MEDICINE



MEDICINE




DNA




FORENSIC TOXICOLOGY


1 CHEMIST / 4 CTAs

Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbg.ac.at




INSTRUMENTATION







1 Autoanalyzer (AU480)




1 LC-MS/MS




5 GC-MSD




3 HPLC/DAD



2 GC/HS-FID




1 UV-SPECTROMETER




1 IMS


Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbg.ac.at

4




FORENSIC TOXICOLOGY






**POST-MORTEM-
TOXICOLOGY**

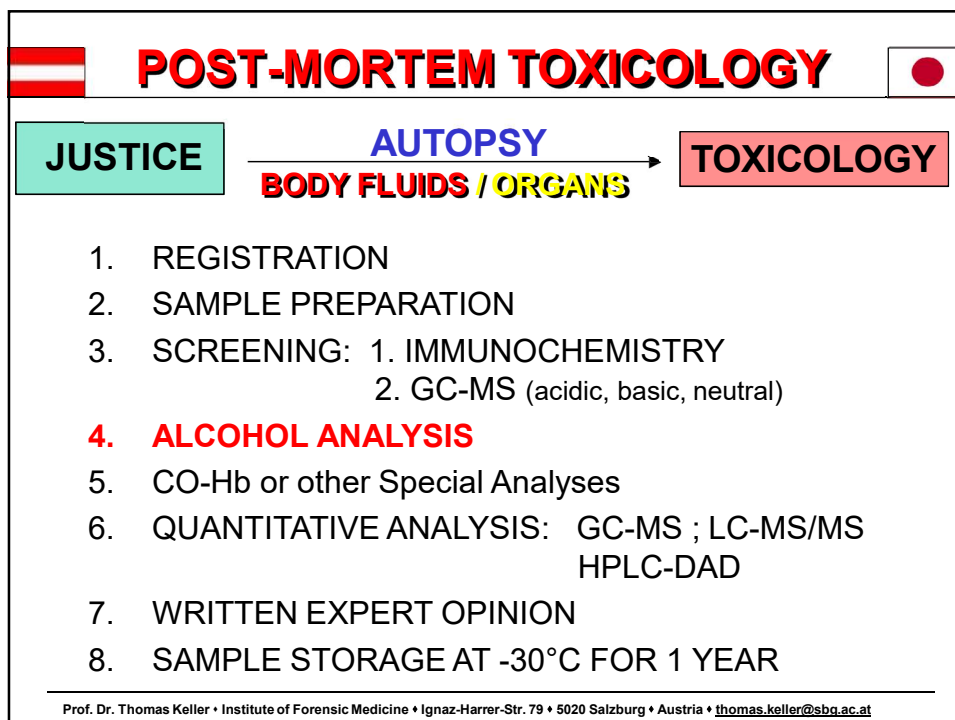
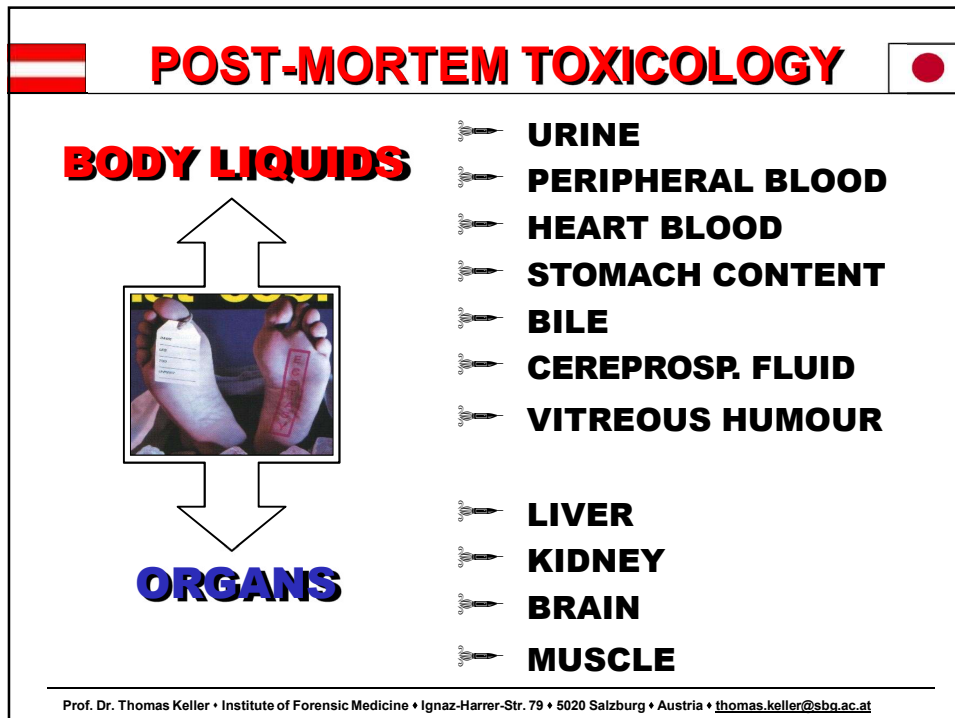


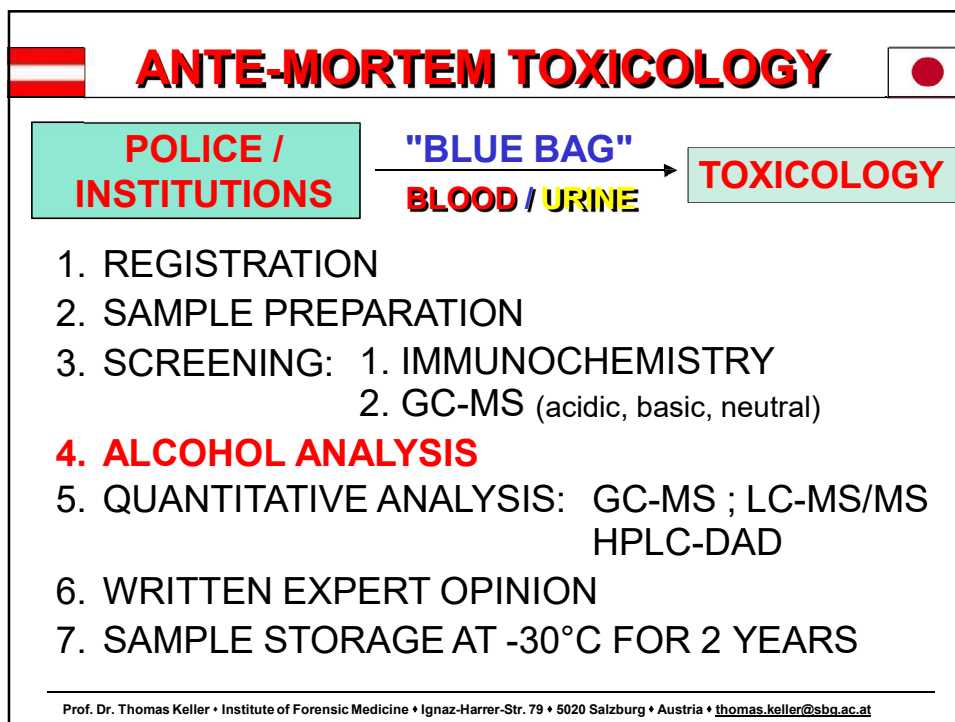
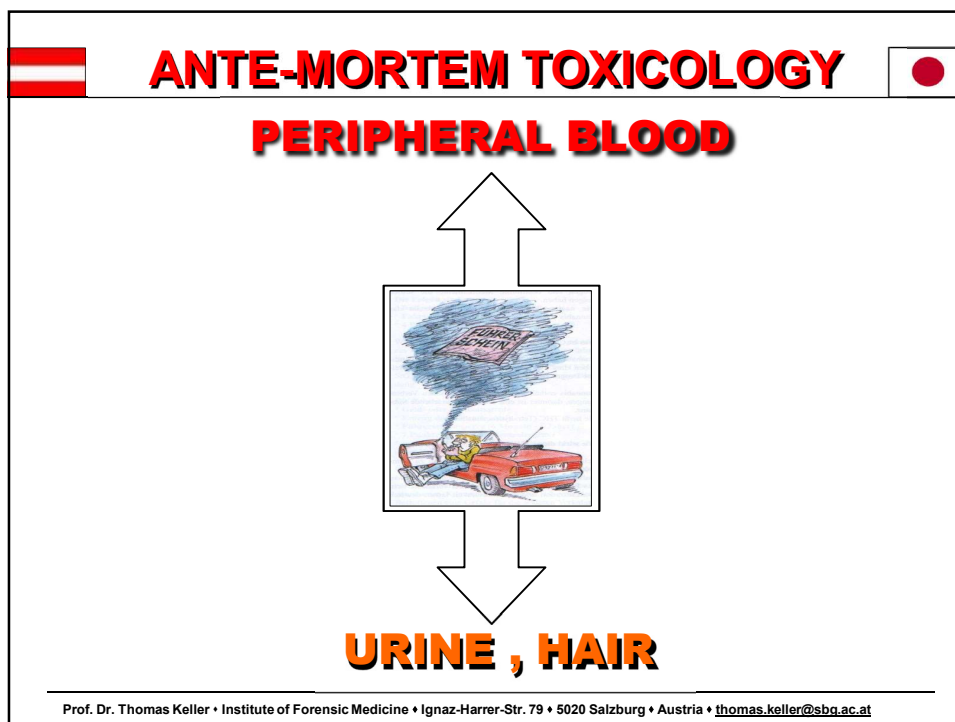
**ANTE-MORTEM-
TOXICOLOGY**

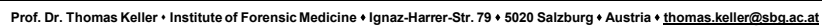


OTHERS

Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbg.ac.at







FORMBLATT Auftragsauftrag		Kennzeichen des PKW und des Fahrzeuges Kennzeichen des PKW: Kennzeichen des Fahrzeuges:																																																																																																																																																																																																															
Datum: 20.01.2019 Auftraggeber: P1 Enns Fahrer: Kennzeichen: Fahrzeugtyp: Fahrzeugnummer:		Uhrzeit: 15:00:00 Name: Platznummer: 15190207 7.000 km																																																																																																																																																																																																															
Material: VORABTUNDRUCHEN IM AUZ AUZ																																																																																																																																																																																																																	
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Untersuchung</th> <th>PROBE</th> <th>DATE</th> <th>1</th> <th>2</th> <th>3</th> <th>4</th> <th>5</th> <th>6</th> <th>7</th> <th>8</th> <th>9</th> <th>10</th> <th>11</th> <th>12</th> <th>13</th> <th>14</th> <th>15</th> <th>16</th> <th>17</th> <th>18</th> <th>19</th> <th>20</th> <th>21</th> <th>22</th> <th>23</th> <th>24</th> <th>25</th> <th>26</th> <th>27</th> <th>28</th> <th>29</th> <th>30</th> <th>31</th> <th>32</th> <th>33</th> <th>34</th> <th>35</th> <th>36</th> <th>37</th> <th>38</th> <th>39</th> <th>40</th> <th>41</th> <th>42</th> <th>43</th> <th>44</th> <th>45</th> <th>46</th> <th>47</th> <th>48</th> <th>49</th> <th>50</th> <th>51</th> <th>52</th> <th>53</th> <th>54</th> <th>55</th> <th>56</th> <th>57</th> <th>58</th> <th>59</th> <th>60</th> <th>61</th> <th>62</th> <th>63</th> <th>64</th> <th>65</th> <th>66</th> <th>67</th> <th>68</th> <th>69</th> <th>70</th> <th>71</th> <th>72</th> <th>73</th> <th>74</th> <th>75</th> <th>76</th> <th>77</th> <th>78</th> <th>79</th> <th>80</th> <th>81</th> <th>82</th> <th>83</th> <th>84</th> <th>85</th> <th>86</th> <th>87</th> <th>88</th> <th>89</th> <th>90</th> <th>91</th> <th>92</th> <th>93</th> <th>94</th> <th>95</th> <th>96</th> <th>97</th> <th>98</th> <th>99</th> <th>100</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>ALKOHOLDRUCKEN</td> <td>PROBE</td> <td>DATE</td> <td>1</td> <td>2</td> <td>3</td> <td>4</td> <td>5</td> <td>6</td> <td>7</td> <td>8</td> <td>9</td> <td>10</td> <td>11</td> <td>12</td> <td>13</td> <td>14</td> <td>15</td> <td>16</td> <td>17</td> <td>18</td> <td>19</td> <td>20</td> <td>21</td> <td>22</td> <td>23</td> <td>24</td> <td>25</td> <td>26</td> <td>27</td> <td>28</td> <td>29</td> <td>30</td> <td>31</td> <td>32</td> <td>33</td> <td>34</td> <td>35</td> <td>36</td> <td>37</td> <td>38</td> <td>39</td> <td>40</td> <td>41</td> <td>42</td> <td>43</td> <td>44</td> <td>45</td> <td>46</td> <td>47</td> <td>48</td> <td>49</td> <td>50</td> <td>51</td> <td>52</td> <td>53</td> <td>54</td> <td>55</td> <td>56</td> <td>57</td> <td>58</td> <td>59</td> <td>60</td> <td>61</td> <td>62</td> <td>63</td> <td>64</td> <td>65</td> <td>66</td> <td>67</td> <td>68</td> <td>69</td> <td>70</td> <td>71</td> <td>72</td> <td>73</td> <td>74</td> <td>75</td> <td>76</td> <td>77</td> <td>78</td> <td>79</td> <td>80</td> <td>81</td> <td>82</td> <td>83</td> <td>84</td> <td>85</td> <td>86</td> <td>87</td> <td>88</td> <td>89</td> <td>90</td> <td>91</td> <td>92</td> <td>93</td> <td>94</td> <td>95</td> <td>96</td> <td>97</td> <td>98</td> <td>99</td> <td>100</td> </tr> </tbody> </table>				Untersuchung	PROBE	DATE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	ALKOHOLDRUCKEN	PROBE	DATE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
Untersuchung	PROBE	DATE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100																																																																																																											
ALKOHOLDRUCKEN	PROBE	DATE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100																																																																																																											
Material: ALKOHOLDRUCKEN																																																																																																																																																																																																																	
PROBE DATE 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100																																																																																																																																																																																																																	
Material: SCREENING AM GC-MSD																																																																																																																																																																																																																	
PROBE DATE 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100																																																																																																																																																																																																																	
Material: SCREENING AM GC-MSD																																																																																																																																																																																																																	
PROBE DATE 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100																																																																																																																																																																																																																	
Material: SCREENING AM GC-MSD																																																																																																																																																																																																																	
PROBE DATE 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100																																																																																																																																																																																																																	
Material: SCREENING AM GC-MSD																																																																																																																																																																																																																	
PROBE DATE 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100																																																																																																																																																																																																																	
Material: SCREENING AM GC-MSD																																																																																																																																																																																																																	
PROBE DATE 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100																																																																																																																																																																																																																	
Material: SCREENING AM GC-MSD																																																																																																																																																																																																																	

Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbq.ac.at



PRE-ANALYSIS



Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbg.ac.at



PRE-ANALYSIS



Ante-Mortem Toxicology

FORMBLATT		Labord Toxikologie	
NAME	CH-Nr.	ID	Probe
CH 120086			
DATUM	PROBE	ID	Probe
12.11.17	SV-Blut	120086	SV-Blut
12.11.17	H-Blut	120086	H-Blut
12.11.17	Urin	120086	Urin
12.11.17	Mgi	120086	Mgi
12.11.17	Galle	120086	Galle
12.11.17	Liquor	120086	Liquor
12.11.17	Glaskörperflüssigkeit (GKF)	120086	Glaskörperflüssigkeit (GKF)
12.11.17	Subduralblut	120086	Subduralblut
12.11.17	REST	120086	REST
postuliert am 12.11.17 von [Signature]			
kontrolliert von [Signature]			

Post-Mortem Toxicology

FORMBLATT		Leichen Toxikologie	
NAME	CH-Nr.	ID	Probe
CH 120135			
DATUM	PROBE	ID	Probe
12.11.17	SV-Blut	120135	SV-Blut
12.11.17	H-Blut	120135	H-Blut
12.11.17	Urin	120135	Urin
12.11.17	Mgi	120135	Mgi
12.11.17	Galle	120135	Galle
12.11.17	Liquor	120135	Liquor
12.11.17	Glaskörperflüssigkeit (GKF)	120135	Glaskörperflüssigkeit (GKF)
12.11.17	Subduralblut	120135	Subduralblut
12.11.17	REST	120135	REST
postuliert am 12.11.17 von [Signature]			
kontrolliert von [Signature]			

Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbg.ac.at



SAMPLE STORAGE AT - 20 °C



Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbg.ac.at



SAMPLE STORAGE AT + 4 °C



Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbg.ac.at



SAMPLE STORAGE AT - 30 °C



**FOR 2
YEARS**

Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbg.ac.at



ETHANOL



Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbg.ac.at



OCCURENCE AND CAUSES FOR INTOXICATION



- Ethyl alcohol is produced by the fermentation of monosaccharides (e.g. glucose, fructose), disaccharides (e.g. maltose, sucrose) or starch (e.g. barley, rice, corn)
- Distillation of the resulting ethanol leads to further concentration
- Causes for intoxication:
drinking excesses
drinking bets
psychological crises
suicidal intentions

Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbg.ac.at



ABSORPTION, DISTRIBUTION, ELIMINATION

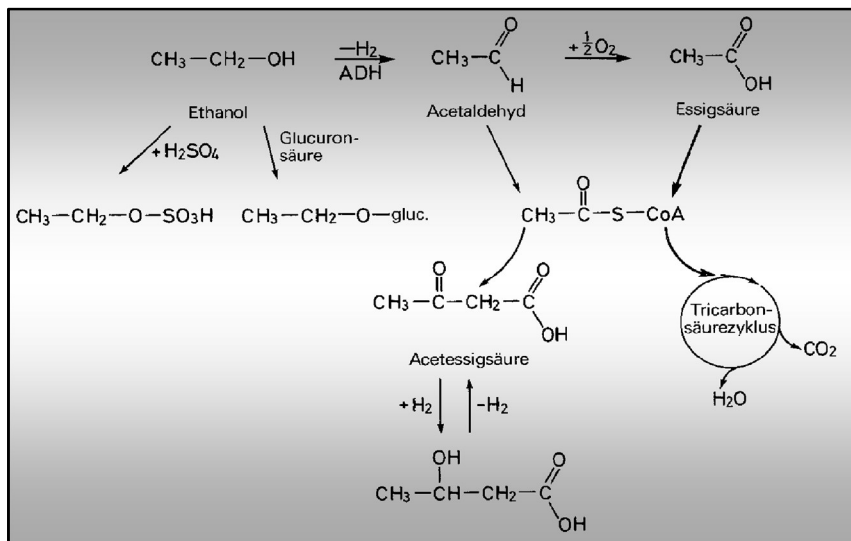


- Alcohol is absorbed into the general circulation from the stomach and upper small intestine.
- Absorption is completed no earlier than 20 min or 120 min after drinking.
- Carbonated beverages accelerate absorption, since CO₂ bubbles released in the stomach irritate the mucous membrane and promote blood circulation.
- Ethanol is highly water soluble and does not distribute well to all body tissues (fatty tissues) after absorption from the gastrointestinal tract.
- Alcohol degradation by the liver starts shortly after drinking, i.e. already during the absorption phase.
- The degradation rate ("beta₆₀") ranges from 0.10 ‰ to a maximum of 0.20 ‰ per hour.
- 2-3% are excreted via the lungs, 1-2% via the kidneys. The majority is metabolized in the liver.

Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbg.ac.at



ALCOHOL METABOLISM



Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbg.ac.at



ACUTE NEUROLOGICAL DEFICITS



<u>BAC [‰]</u>	<u>Neurological deficits</u>
3.	first motoric problems (difficulties with walking)
4.	slightly restricted field of vision
5.	limit of driving and roadworthiness (in Germany)
6.	slight speech disorders, delays in response time
7.	slight nystagmus (involuntary eye movements)
1.0	moderate state of intoxication
1.4	strong intoxication, limit of coordinated movement
2.0	strong clouding of consciousness, impairment of memory
> 3.5	alcoholic anaesthesia
4.0-5.0	<i>lethal limit concentration</i>

Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbg.ac.at



PHARMACOLOGICALLY INDUCED INTOLERANCE TO ETHANOL



- “lime nitrogen disease” in farm workers, caused by spreading of calcium cyanamide ($\text{Ca}=\text{N}-\text{CN}$) in combination with alcohol consumption
- extreme reddening of the skin on head, shoulders and chest
- sensation of heat
- severe headache
- general indisposition
- heart palpitations with simultaneous decrease of blood pressure (even circulatory collapse)
- increased breathing frequency
- symptoms persist as long as ethanol is distributed throughout the body
- similar symptoms occur in workers who come into contact with the vulcanization accelerator tetraethylthiuram disulfide (disulfiram) during the polymerization of rubber.

Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbg.ac.at



BLOOD ALCOHOL ANALYSIS



- Greatest evidential value, from a forensic perspective
- Specific detection methods (ADH + GC Headspace; 2 x GC Headspace)
- Methodical and practical errors are insignificant
- Analysis is easily repeatable, if necessary

Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbg.ac.at



BLOOD ALCOHOL ANALYSIS



WIDMARK:

$$c(t) = \frac{A}{KG \cdot r} - \text{beta}_{60} \cdot t$$

- $c(t)$** : Presumed blood alcohol concentration at time t
A : Quantity of absolute alcohol consumed [g]
KG : Body weight [kg]
r : Volume of distribution [L/kg]
(male: $r = 0.7$; female: $r = 0.6$)
 beta_{60} : Elimination rate per hour [g/h]
t : Time from the start of consumption to actual event

Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbg.ac.at



ISO / IEC 17025:2017



ISO/IEC 17025 General requirements for the competence of testing and calibration laboratories is the main ISO standard used by testing and calibration laboratories.

ISO/IEC 17025 is the standard for which most labs must hold accreditation in order to be deemed technically competent.

In many cases, suppliers and regulatory authorities will not accept test or calibration results from labs that are not accredited.

ISO/IEC 17025 requires continual improvement.

Accredited labs will be expected to keep abreast of scientific and technological advances in the relevant areas.

ISO/IEC 17025 allows laboratories to carry out procedures in their own ways, but an auditor may require the laboratory to justify using a particular method.

ISO/IEC 17025 is the basis for accreditation from an accreditation body.

Third party auditing of the lab is normally carried out by the national organization responsible for accreditation.

Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbg.ac.at



ISO / IEC 17025:2017



ISO / IEC 17025試験・校正機関の力量に関する一般要求事項は、試験・校正機関が使用する主要なISO規格です。
ISO / IEC 17025は、ほとんどのラボが技術的に適格であると見なすために認定を取得する必要がある規格です。
多くの場合、供給者および規制当局は、認定されていない試験所からの試験または校正結果を受け入れないでしょう。
ISO / IEC 17025では継続的な改善が求められています。
認定ラボは、関連分野における科学のおよび技術的進歩に遅れないようにすることが期待されます。
ISO / IEC 17025では、検査室は独自の方法で手順を実行することができますが、監査人は検査室に特定の方法を使用することを正当化するように要求することがあります。
ISO / IEC 17025は、認定機関による認定の基盤です。
ラボの第三者監査は、通常、認定を担当する国内組織によって行われます。



GUIDELINES ETOH-ANALYSIS



Directives for the Determination of Blood Alcohol Concentrations (BAC) for Forensic Purposes – BAC Directives

Preface

In its 1966 expert report, the Federal Board of Health formulated directives regarding the determination of blood alcohol concentrations in traffic offenses, which subsequently were adapted several times due to supreme court decisions, following the current state of science and technology. In October 1997, recommendations for adjustment were jointly published by the German Society for Forensic Medicine (DGfM), the German Society for Traffic Medicine (DGfVw) and the Society for Toxicological and Forensic Chemistry (STFC). Due to less severe organizational structures, standards for reporting and advances in analytics, the guidelines were amended in 2007. Now, another adjustment of the September 2007 Directives (BtUnatb07/44, 273-282) to the existing standards has become necessary.

1. General Background

The purpose of blood alcohol measurements is to determine, with probative value, blood alcohol concentrations for forensic objectives. For the following purposes, the term "alcohol" shall refer to ethanol (ethyl alcohol, CAS 64-17-5).

Alcohol concentration always has to be measured by two different methods, either using an alcohol dehydrogenase (ADH) method as well as a gas chromatography (GC) method or, alternatively, two different GC methods.

Both analytic methods have to be performed at independent work stations, with separate equipment and their own dedicated technical personnel. In other words, analysis may not be performed across workstations. For each method, all analyses have to be performed by a single person, starting from the beginning at least until the measurement of results has been finalized. A division of labor is not permitted. It is imperative that the measured values are only brought together at the end of the procedure. Calculation, evaluation and documentation of the alcohol concentrations may, however, be performed by a third person.

2. Contracting Authority and Objective

Contracting authorities may be courts, public authorities, institutions or private persons. Blood samples may be collected according to the relevant provisions of the Code of Criminal Procedure or the Code of Civil Procedure, respectively, or they may be submitted voluntarily after informed consent.

3. Handling of Sample Material

The laboratory will analyze blood samples obtained in accordance with Section 2. The date the sample has been received has to be documented. The blood samples have to be unpacked by two authorized persons. This process has to be recorded. Flasks in the samples, packaging, labeling and/or accompanying documents have to be documented carefully. The labels on the blood samples and the accompanying documents have to be checked immediately for consistency. The identification details of contracting authorities and any adhesive labels that may have been sent along with the samples have to be used as intended. In addition, a lab-internal sample identification system may be used.

4. Requirements Regarding Staff and Space

4.1 Staff

The head of the laboratory is required to have a university degree in science or medicine (diploma, master, Staatsexamen or equivalent degree). To be able to perform analyses for forensic purposes, he or she has to provide proof of a corresponding forensic qualification (Continuing Education). In addition, continuing training has to be corroborated by regular participation in relevant training courses.

Technical personnel are required to have a qualified vocational training in the field of laboratory analysis. Proof of further training in the field of forensic analysis has to be provided.

4.2 Space

The analysis of blood alcohol concentrations may be performed in specially designed laboratories only. It is imperative to eliminate any possibility of contamination of blood samples, standards, reagents and laboratory equipment by volatile substances, particularly substances containing alcohol (including two-propanol, etc.). The two analytical methods have to be performed at two independent, separate work stations.

5. Analysis

5.1 General Information

Each method has to be used to determine two independent values to three decimal places. Therefore, two fillings at room temperature of the same volume or weight (all-quotient) per method are required. Both methods have to be validated according to the GTFCh Directives before they are used in routine application. However, it is not necessary to check the usability of aqueous calibrators.

GUIDELINES ETOH-ANALYSIS

5.2 GC Method

5.2.1 General information

The gas-chromatographic analysis of the blood alcohol concentration is performed using a procedure established in the respective laboratory. Calibration and quality controls have to be performed in accordance with Sections 6 and 7 of the Directives.

As an internal standard, a substance that is not normally present in serum/plasma has to be added to the serum/plasma sample. Interferences with substances commonly present in serum/plasma are to be excluded. Tertiary butanol is a well established internal standard. For mass spectrometric detection, deuterated ethanol (hydrogen/deuterium exchange > 2, no deuterium attached to the oxygen) has to be used.

5.2.2 Two different GC methods

Two GC methods are different, if the following criteria are met:

- Two different systems with comparable detectors (e.g. flame ionization detectors), but two different polar columns that ensure that the relative retention times of the two methods for ethanol and the internal standard are different. Interferences with potentially expected additional substances have to be excluded by prior validation (in particular concomitant alcohols and endogenous volatile substances, e.g. ketones).
- Two systems and two different detectors (e.g. flame ionization detector and mass spectrometer with recording of at least 2 ions).

5.3 ADH Method

The enzymatic determination of blood alcohol concentrations is performed using a method established in the respective laboratory. Calibration and quality controls have to be performed in accordance with Sections 6 and 7 of the Directives.

If protein precipitation is required (determination in whole blood, hemolytic serum/plasma), it has to be performed the same way twice, following two separate ships. Multiple analyses from only one deproteinized sample are inadmissible. It is necessary to ensure that no evaporation effects occur. In addition, for any method with protein precipitation, a separate validation has to be performed.

6. Calibration

For calibration, aqueous ethanol solutions are used, the content of which has to be guaranteed by the manufacturer. At least five calibrator concentrations have to be used in single or multiple determinations, with a minimum concentration of $\leq 0.20; 1.00; 2.00$ and 3.00 g ethanol per L. In contrast to the ADH method, the blank value of the GC method is not considered as a calibration point. For deproteinized samples in the ADH method, calibration has to be performed with similarly treated aqueous standards.

For each series of analyses, calibration has to be repeated, unless all three quality controls (low, medium and high, see Section 7) are within their specifications. In this case, it is allowed to use the existing calibration.

If values above the highest calibration point are obtained for authentic samples, a procedure has to be established to determine the result by dilution. The dilution (e.g. with isotonic saline solution) may have to be performed separately for both methods.

7. Quality Control

7.1 General requirements for the measurement of control samples

Suitable serum/plasma samples have to be used for lab-internal quality controls. These are certified control samples or samples with reference concentrations and confidence ranges guaranteed by the manufacturer. The confidence range may not exceed the maximum acceptable deviations (according to Section 7.2) and, if necessary, may have to be limited by the laboratory itself when determining blood alcohol concentrations for forensic purposes. The control samples should reflect the variability of the matrix of the original samples. This is why samples from as many different manufacturers as possible should be used as controls. Samples produced in-house are not suitable as quality controls for alcohol analysis.

At least one negative control and two different positive controls (each performed in duplicate) have to be performed on each day of analysis or in each series, respectively. A positive control is required at low concentrations (≤ 0.50 g/L serum or ≤ 0.40 g/kg whole blood), and between runs alternately at least one additional control in the medium (0.50 - 1.50 g/L serum or 0.40 - 1.25 g/kg whole blood) and high concentration range (≥ 3.0 g/L serum or ≥ 2.43 g/kg whole blood), respectively.

In each analysis series, control samples have to be inserted after at least 10 authentic samples (20 single determinations). Each sequence has to end with a control sample.

All quality controls have to be evaluated and documented. A control chart with two measured values per procedure has to be established, which is used to evaluate the individual results of both methods. At least one pair of values per concentration and method per run has to be entered in the control chart. However, it has to be clarified beforehand, which control will be actually entered.

Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbq.ac.at

GUIDELINES ETOH-ANALYSIS

7.2 Acceptance criteria

7.2.1 Control samples

The target concentration (central line) and the maximum acceptable deviations are entered into the control chart. A maximum deviation of ± 0.05 g/kg (0.052 g/L) with a target concentration of ≤ 1.000 g/kg whole blood or 1.236 g/L serum is considered to be acceptable, with a target concentration > 1.000 g/kg whole blood or 1.236 g/L serum the maximum acceptable deviation is $\pm 5\%$.

If the specifications are exceeded, the cause for the deviation has to be determined, corrective measures have to be taken and, if necessary, the entire test series including all control measures has to be repeated. If this is the case, only the concentrations of the repeated test series may be entered in the test report.

The measurement uncertainty may be determined on request, in accordance with the GTFCh Directives.

7.2.2 Authentic samples

For each sample, the measurement range of individual values has to be evaluated for both methods:

For mean analytical values ≤ 1.000 g/kg whole blood or 1.236 g/L serum, a maximum difference of 0.100 g/kg (0.104 g/L) between the highest and the lowest individual result is acceptable. For mean analytical values > 1.000 g/kg whole blood or 1.236 g/L serum, the maximum range is 10% .

8. External Quality controls

As an external quality control, the laboratory has to participate in at least four External QC Schemes in accordance with forensic criteria, covering the forensically relevant work performance. According to Section 5 of the Directives, the QC Scheme samples have to be analyzed in the same way as routine samples, which is why the matrix of choice should consist of serum or plasma. A valid certificate has to be available at any time.

9. Calculation of Blood Alcohol Concentration and Test Report

The determination of alcohol concentrations is performed in serum/plasma in all cases where the respective material may be obtained. The concentration in whole blood is entered in the test report. Following the distribution ratio of water and serum/plasma or whole blood, the blood alcohol concentration is calculated based on the serum or plasma alcohol concentrations, by dividing the result with the factor 1.26. If calibration solutions showing alcohol concentrations in mg/mL or g/L are used, the concentrations have to be converted into mg/g or g/kg, respectively, by using the divisor 1.03 (density of serum). The combined divisor is, therefore, 1.26.

If no serum/plasma may be obtained, the analysis has to be performed in whole blood. Taking the density (whole blood) into account, the divisor 1.06 has to be used to convert into mg/g or g/kg. When using diluted samples in a headspace method (with a minimum 4 fold dilution), no correction factor for the vapor pressure increase has to be taken into account.

The calculated whole blood alcohol concentrations have to be cut after the second decimal place. The arithmetic mean of the four individual concentrations is calculated and also cut after the second decimal place.

All individual values and their mean values have to be reported in „per milliliter“ (g ethanol per kg blood). Results below the lowest calibrator (lowest calibrator greater than or equal to the limit of determination) have to be highlighted accordingly.

The test report has to indicate any deviations/anomalies and confirm that the analyses were performed according to the current Directives, and, in addition, that a certificate for the successful participation in an External QC Scheme has been available at the time of analysis.

10. Document Retention Requirements


All diagnostic reports, measurement value protocols and quality control charts have to be retained for a minimum of 6 years.

11. Retention of Samples


The test material has to be closed immediately after each sampling prior to analysis. The addition of substances of any kind to the primary sample after its receipt in the laboratory is not permitted. Blood samples have to be stored immediately in a refrigerator at approx. 4°C . For follow-up analyses or the analysis of potential concomitant substances, serum/plasma should be separated from the remaining sample and stored at max. -15°C after the analysis has been completed. This procedure, including the labelling, has to be performed, checked and documented in the presence of a second person. The original and any separated samples have to be retained for at least 2 years, unless otherwise specified by legally effective instructions. The duty of custody is incumbent on the responsible laboratory manager.

Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbq.ac.at

45



GUIDELINES EtOH-ANALYSIS



12. Data Protection

The respective contracting authority is also the owner of the information. By implementing appropriate data security measures, it has to be ensured that no independent third parties will receive data-protected information. This does not only refer to the SAC-value, but also to the fact that any test material of any specific person has been received. All employees have to be informed accordingly in writing.


13. Quality Management

The head of the laboratory has to ensure that the provisions of these Directives are complied with at all times. This requires the implementation of a quality management system in accordance with the requirements of DIN EN ISO 17025 for forensic purposes.


14. Entry into Force

The Directives shall be effective on the day of their publication in the journal *Bulletin*. At the same time, the Directive of September 2007 will become invalid. Anyone who has determined blood alcohol concentrations for forensic purposes prior to the entry into force of these Directives on the basis of the previously applicable Guidelines may continue to perform such tests with a transitional period of 1 year.

Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbg.ac.at



SOP EtOH-ANALYSIS



Standard Operating Procedure (SOP)
Determination of Ethyl Alcohol by Headspace-Gas-Chromatography-FID

Changes:	Section
Addition of a new device (FT_FE_064)	1
Outsourcing of instrument conditions in operating procedures	4.1
FT_AA_018 added to related documents	8

Contents:	Page
1 Objective	2
2 Test principle	2
3 Test material	2
3.1 Interfering factors	2
3.2 Storage	2
4 Analyzer system	3
4.1 Device(s) and settings	3
4.2 Reagents, chemicals, reference material	3
4.3 Other consumables	3
5 Quality control	3
6 Test procedure	3
6.1 Preparation of reagents / solutions	3
6.1.1 Preparation of THF solution (Internal Standard)	3
6.2 Calibration	4
6.3 Pipetting procedure	4
6.4 Sequence	4
6.5 Evaluation	5
6.6 Assessment and release criteria	5
7 Limits of the procedure	5
8 Related documents	6
9 References	6

1 Objective

The qualitative detection and quantitative determination of ethanol in serum and whole blood samples, urine, body fluids and aqueous solutions by means of Headspace-GC-FID (Devices FT_GE_053, FT_GE_057 and FT_GE_064) is to enable confirmation or exclusion of consumption.

2 Test principle

Gas chromatography (GC) is based on the separation of components by repeated distribution or adsorption of a mobile and a stationary phase. The mobile phase always consists of a gas, the so-called carrier gas. Here, the stationary phase is the separation column.

Headspace Analyses, rendered gaseous in a sample oven, are introduced into the system (after a certain amount of time, equilibrium has been reached between the substances in the solution and the superatant vapor space and a certain amount of gas is transferred by means of an automatic dosing needle). This leads to different interactions of these volatile substances with the column material. They are retained at the column material for different periods of time, thus causing the intended separation.

After passing through the separation column, the gas flow enters the FID (Flame Ionization Detector). Its functional principle is to measure the conductivity of an oxyhydrogen flame (with hydrogen serving as the fuel gas) between two electrodes. The substances to be analyzed are transported into the flame via a carrier gas stream, where they are ionized thermally. The electrons released during ionization are collected (via a grid around the flame) and recorded as a peak by a connected data system. The resulting chromatogram reflects the time course of the current signal, with each individual peak representing a substance present in the test material. The peak areas are used to determine the respective concentrations.

3 Test material

Serum, whole blood, homogenized blood clots, urine, other body fluids, aqueous solutions and tissue samples.

3.1 Interfering factors

The determination of analytes in decayed sample material is often rendered difficult due to the altered matrix.

3.2 Storage



Refer to: FT_VA_002_PROB: Order Verification and Handling of Samples in the Toxicology Department.

4 Analyzer system

4.1 Device(s) and settings
HS-OC with FID
Detector
Refer to: FT_AA_018_etch

4.2 Reagents, chemicals, reference material
Aqua bidest
Tetrahydrofuran (THF) p.a.
Agroscopic standards: 0.1 – 0.2 – 0.5 – 1.0 – 2.0 – 3.0 – 4.0 – 5.0 g/l Ethanol
Control samples s.g. by Medchem/ACQ Science

Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbg.ac.at

SOP EtOH-ANALYSIS

4.3 Other consumables
20 mL Glass vials
Crimp caps with Septum N20

5 Quality control
In each series of analysis, control samples, e.g. by the companies Medchem or ADO Science, are measured and evaluated to validate accuracy and precision.
In each series, a blank serum sample is included as a negative control.

6 Test procedure

6.1 Preparation of reagents / solutions
6.1.1 Preparation of a THF solution (Internal standard)
Refer to FT_AA_008 Preparation of THF Solutions

6.2 Calibration
The calibration series is: 0.1 – 0.2 – 0.5 – 1.0 – 2.0 – 3.0 – 4.0 – 5.0 % Ethanol
The concentration of the Internal Standard (THF) is 0.04 g/L.

The test material consists of serum without any additives. The results, however, are reported (as legally required) in relation to blood alcohol, using a divisor of 1.2 which corresponds to the water content ratio for blood/serum of 91 % to 76 %. Calibration is performed with aqueous reference solutions in per mill (% mg/g or g/kg). Both the density of the plasma with 1.026 (conversion from g/L to g/kg) and reference to blood with 1.2 have to be taken into account for conversion, resulting in a divisor of 1.236.

Here, however, the concentrations are entered into the Software's Calibration Table in such a way that the calculated and printed result of the serum samples is immediately reported as the blood alcohol concentration. The results of the serum samples no longer need to be converted. Results of whole blood samples are multiplied by the factor 1.16, the results of all aqueous solutions (including urine) are multiplied by the factor 1.236. If the serum is too hemolytic, the serum will not be separated and the sample is measured as a whole blood sample.

EtOH in g/L	0.10	0.20	0.50	1.00	2.00	3.00	4.00	5.00
EtOH in %	0.0800	0.1618	0.4045	0.8090	1.6181	2.4271	3.2362	4.0453

6.3 Pipetting procedure
200 µL standard or sample is pipetted into the 20 mL headspace vials together with 1000 µL Internal Standard (THF), using the Hamilton MicroLab 500 Series Diluter (refer to FT_BA_007 Micro Hamilton MicroLab 500 Series for instructions of use).
As a first case, the calibration series is pipetted, together with the aqueous alcohol standards, followed by the first control 0.5 g/L and the patient samples in duplicate. After 10 patient samples, another control is run in duplicate (either 1.1 or 3.0 g/L ethanol). At the end of the series, the control (either 1.1 or 3.0 g/L) is pipetted in duplicate, followed by the blank serum (as negative control). The choice of controls is optional.
(Refer to work list FT_FB_009 Alcohol determination using Headspace-GC)

6.4 Sequence
The sequence is documented according to the work list, including lot number, name and sample material. Enter the operator name and the data path (D:\YYYY\YYYYMMDD) before starting the sequence.

6.5 Evaluation
After completion of the chromatographic analysis, the data are evaluated quantitatively by means of the peak area. First, the integration performed by the program is evaluated visually. In the case of interference by matrix particles, a manual integration of the GC signal is required, based on the probable base line. The concentration printed for the respective case will then be manually entered into the corresponding form (FT_FB_010 Alcohol Determination) and added to the case file.

6.6 Assessment and release criteria
The series of analyses may be released if the following conditions are met:

- The correlation coefficient is greater than 0.98
- The respective control samples are within the specified ranges (limits according to "GTFCh Directives for the Determination of Blood Alcohol Concentrations for Forensic Purposes")
- The retention times of the analyte and Internal Standards have to correspond with the specifications.



For patient samples:
Samples above 4.04 % have to be diluted and re-measured, so that the released value is < 4.04%.

For mean analytical values below 1.00 %, a maximum difference of 0.10 % between the lowest and the highest individual result is acceptable.
For analytical values above 1.00, the maximum acceptable difference is 10 %.

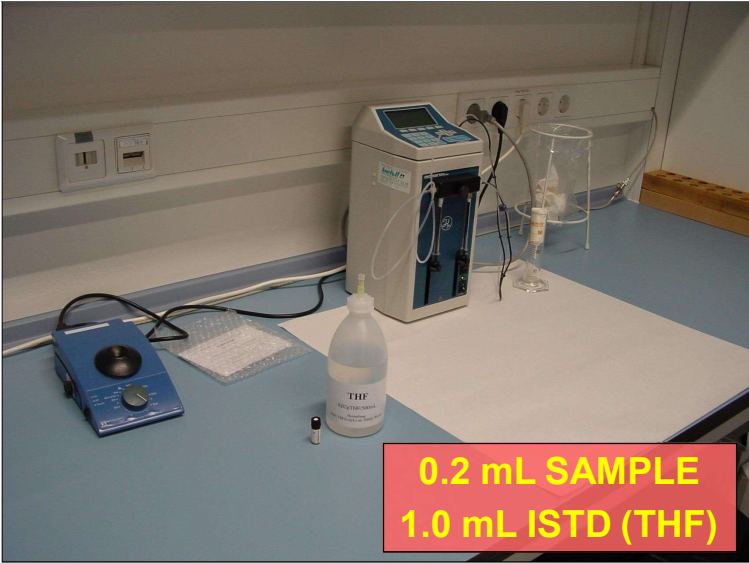
For the assessment, the 4 individual measurements of both blood alcohol methods are averaged. The result is reported to two decimal places after the decimal point, without rounding.

7 Limits of the procedure
Refer to Validation Report

Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbg.ac.at

ALCOHOL-SAMPLE PREPARATION



0.2 mL SAMPLE
1.0 mL ISTD (THF)

Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbg.ac.at



ETOH STANDARDS & CONTROL SAMPLES



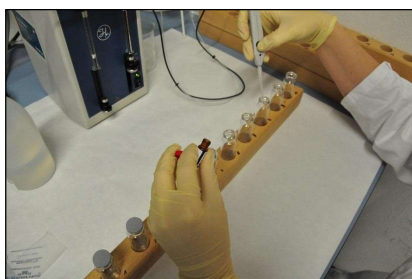
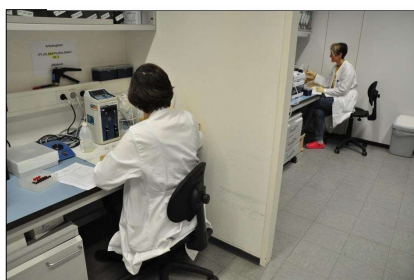
ACQ Science GmbH
Etwiesenstrasse 37
D- 72108 Rottenburg-Hailfingen
Germany

phone: + 49-7457-946930
fax: + 49-7457-9469369
email: info@acq-science.de

Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbg.ac.at



ALCOHOL-SAMPLE PREPARATION



Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbg.ac.at



PE CLARUS 680 GC/HS-SYSTEMS



Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbg.ac.at





GC CLARUS 680

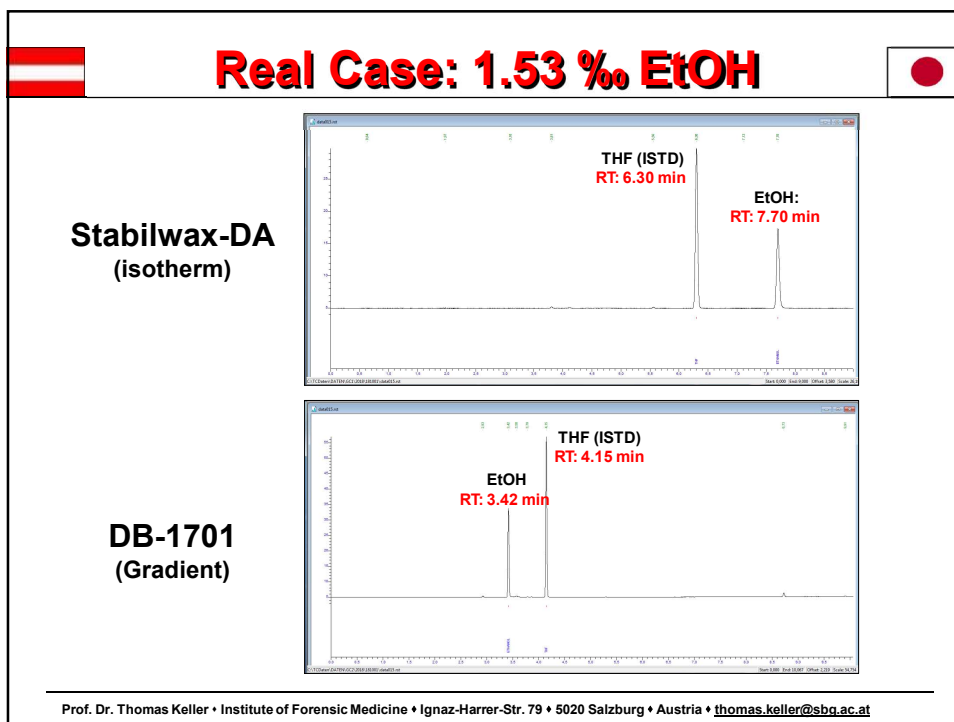


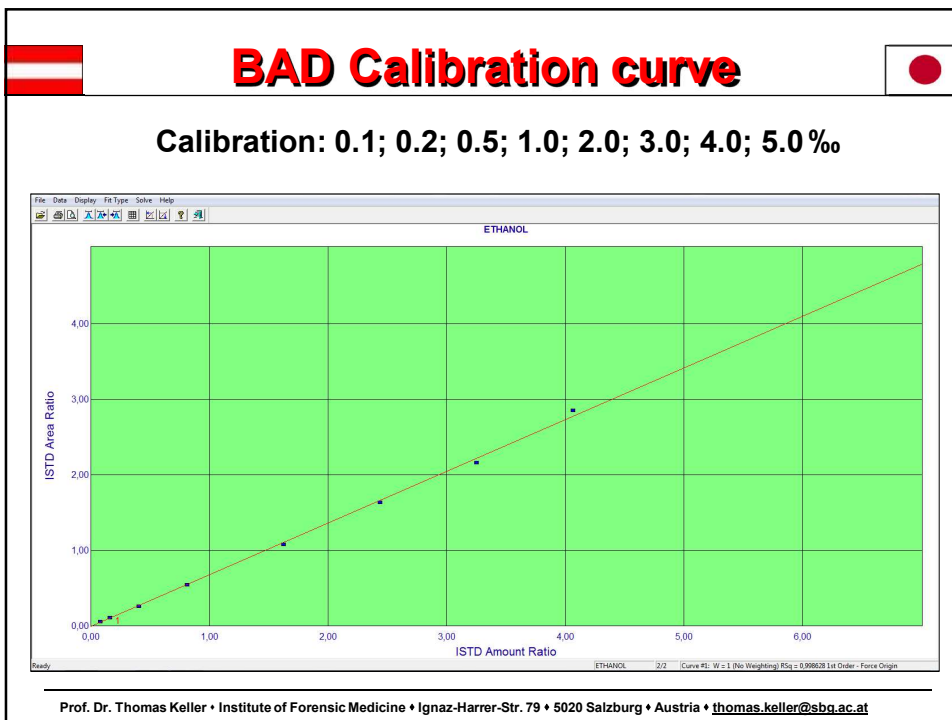
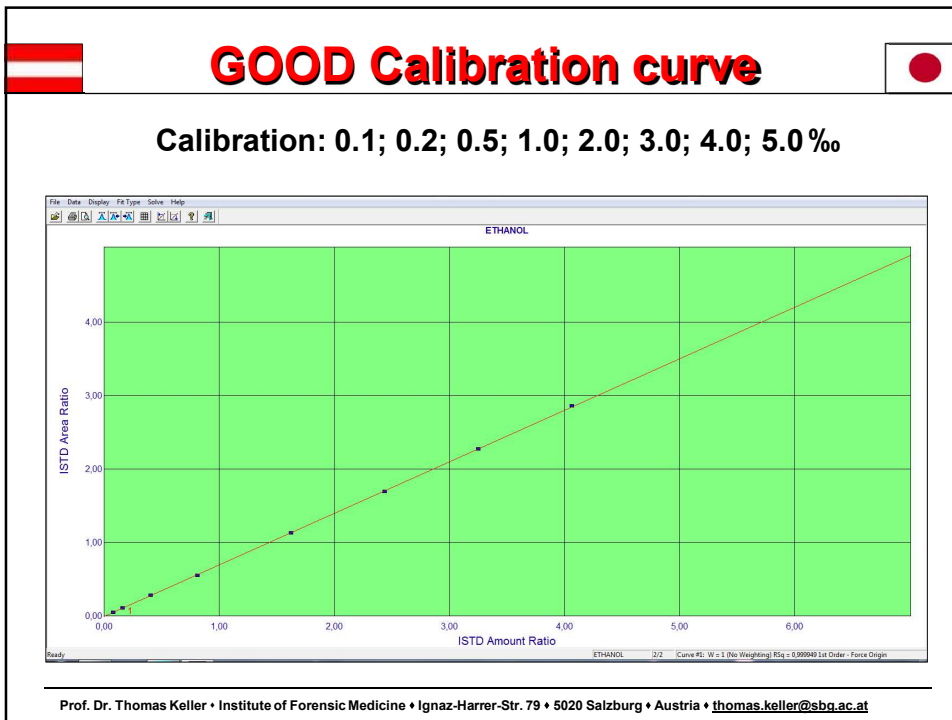
GC CLARUS 680	SYSTEM 1	SYSTEM 2
Column	Stabilwax-DA (60 m; 320 µm ID; 0.5 µm df) (RESTEK)	DB-1701 (60 m; 320 µm ID; 1.0 µm df) (AGILENT)
Carrier Gas	N ₂ 5.0	N ₂ 5.0
Split Flow	5 mL/min	5 mL/min
Initial Setpoint	100 kPa	2.5 mL/min
Temp-Progr.	(9') 60 °C	(1') 80 °C – 25 °C/min □ 120 °C (0.8') – 12 °C/min □ 200 °C
Split	on	on
Injector Temp.	100 °C	100 °C
Detector A	FID	FID
Detector Temp.	250 °C	280 °C
H ₂ Flow	45 mL/min	45 mL/min
Air Flow	450 mL/min	450 mL/min

Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbg.ac.at

<div>  <div>HS 110</div>  </div>		
HS 110	SYSTEM 1 Stabilwax-DA	SYSTEM 2 DB-1701
Oven Temp	66 °C	66 °C
Transfer Line	100 °C	120 °C
Needle Temp	100 °C	100 °C
Vial Thermost. Time	15.0 min	15.0 min
Pressurize	2.0 min	2.0 min
Withdraw	1.0 min	1.0 min
GC Cycle	10.0 min	15.0 min
Inject	0.03 min	0.03 min
Vial Vent	on	on
Column Pressure	120 kPa	200 kPa

Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbg.ac.at



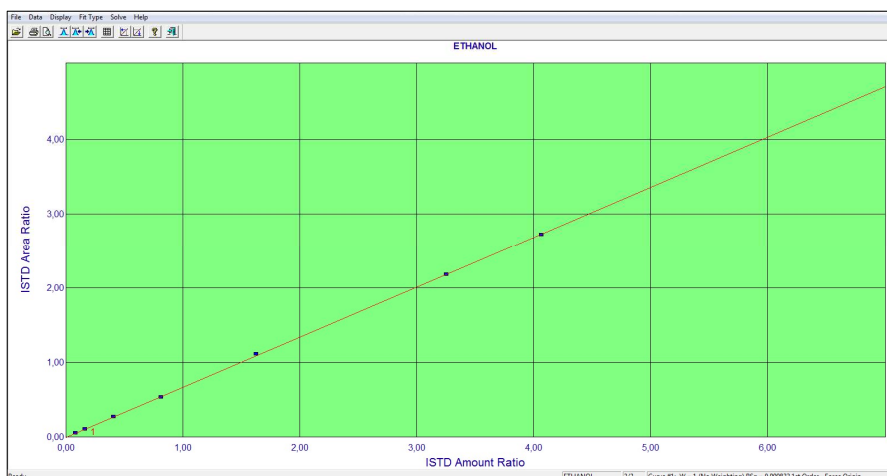




NICE Calibration Curve again!



Calibration: 0.1; 0.2; 0.5; 1.0; 2.0; 4.0; 5.0 ‰



Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbg.ac.at



PROFICIENCY TESTING



EXTERNAL QUALITY CONTROL

- **EtOH** : **Alcohol**
- **BTM** : **Illicit Drugs in Serum**
- **UF** : **Drugs in Urine**
- **QSA** : **Quantitative Screening Analysis (S+U)**
- **BZF** : **Benzodiazepines in Serum**
- **STM** : **Substitution Drugs in Serum and Urine**
- **TCA** : **Tricyclic Antidepressants**
- **TDMA** : **Therapeutic Drug Monitoring**

ARVECON GmbH / GTFCh:

Mr. Michael Herbold
ARVECON GmbH
Kiefernweg 4
D- 69190 Walldorf
Germany

phone: +49-6227-6909170
fax: +49-6227-6909179
email: info@arvecon.de

Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbg.ac.at

CERTIFICATE FOR EtOH

Certificate
Proficiency Test - EtOH 1/19
Ethanol in Serum

Lab code: 11610
Prof. Dr. Thomas Keller
Institut für Geriatrie
Technische Universität
Salzburg
8020 Salzburg
Österreich

Today, we confirm the participation in the proficiency test mentioned above for the quantitative determination of ethanol in serum.
The participant has successfully taken part with the following combination of methods:

Gaschromatography / Gaschromatography

The certificate is valid until February 2020.

Salzburg, 28 February 2019

Dr. Gert Keller

GTFCH - ETOH 1/19 Lab code: 11610

In the following we have listed your results of the proficiency test. For detailed information see the following page:

Sample	Applied Method	Target value	Accepted range	Measured value	z-score	Result
A	Gaschromatography	0.08	0.07 - 0.09	0.08	0.00	pass
	Gaschromatography	0.08	0.07 - 0.09	0.08	0.00	pass
	Gaschromatography	0.08	0.07 - 0.09	0.08	0.00	pass
B	Gaschromatography	0.08	0.07 - 0.09	0.08	0.00	pass
	Gaschromatography	0.08	0.07 - 0.09	0.08	0.00	pass
	Gaschromatography	0.08	0.07 - 0.09	0.08	0.00	pass

Lab code: 11610

GTFCH - ETOH 1/19 Lab code: 11610

SUMMARY OF RESULTS

Sample	Method	Number of participants	Target value	Median	z-score	Accepted range
A	Gaschromatography	75	0.08	0.08	0.00	0.07 - 0.09
	Gaschromatography	75	0.08	0.08	0.00	0.07 - 0.09
	Gaschromatography	75	0.08	0.08	0.00	0.07 - 0.09
B	Gaschromatography	75	0.08	0.08	0.00	0.07 - 0.09
	Gaschromatography	75	0.08	0.08	0.00	0.07 - 0.09
	Gaschromatography	75	0.08	0.08	0.00	0.07 - 0.09

Lab code: 11610

Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbg.ac.at

ACCREDITATION ISO 17025

Die Nationale Akkreditierungsstelle / The National Accreditation Body

AKKREDITIERUNG AUSTRIA

bestätigt die Akkreditierung der Rechtsperson / confirms the accreditation of

Gerichtsmedizin GmbH
Josef-Schwer-Gasse 9, A-5020 Salzburg

Identifikationsnummer / ID-number: **0364**

als / as **Prüfstelle / Testing Laboratory**
gemäß / according to **EN ISO/IEC 17025:2005**

Datum der Erstakkreditierung / Initial date of accreditation: **08.04.2014**
Bundesarbeitsgemeinschaft / Arbeitsgemeinschaft
Gerichtsmedizin GmbH, Ignaz-Harrer-Strasse 79, A-5020 Salzburg

Informationen zum Akkreditierungsumfang und zur Akkreditierung Austria / Information about the accreditation scope and Accreditation Austria (https://www.bka.at/de/akkreditierung)

Die Akkreditierung wurde mittels Bescheid erteilt und damit bestätigt, dass die Konformitätsbewertungsstelle die angeführten Anforderungen erfüllt. Diese Bestätigung darf nur unverändert weiterverleitet werden.
The accreditation was granted by a decree which confirms that the Conformity Assessment Body fulfills the given requirements. This confirmation of accreditation may not be reproduced other than in full.

13.02.2018
Datum / Date

Dipl.-Ing. Dr. Norman Brunner
Leiter Akkreditierung Austria / Head Accreditation Austria

Abteilung 5/13 - Akkreditierung Austria
1010 Wien / Salzburg T: Tel.: +43 (0) 1 711 00 - 888236 | Fax: +43 (0) 1 711 00 - 804204 | E-Mail: akkreditierung@bka.at | www.bka.at/de/akkreditierung

Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbg.ac.at

45

53



VERY IMPORTANT TODAY



I can do
things you cannot!

You can do
things I cannot!

**TOGETHER we can do
great things!**

Mother Teresa

↓

COOPERATION !!!

Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbg.ac.at



COOPERATION PARTNERS





Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbg.ac.at



どうもありがとうございます



Domo arigato gozaimasu!
Thank you very much!
Vielen Dank!



Prof. Dr. Thomas Keller • Institute of Forensic Medicine • Ignaz-Harrer-Str. 79 • 5020 Salzburg • Austria • thomas.keller@sbg.ac.at