

Automatische Differenzierung der Blutproben und Zuordnung der Korrekturfaktoren bei der computergesteuerten gaschromatographischen Blutalkoholbestimmung*

Hans-J. Battista

Institut für gerichtliche Medizin der Universität Wien (Österreich)

Eingegangen am 4. Oktober 1972

Automatic Evaluation of Sample Composition and Correction Factors in Computerized Blood Alcohol Analysis

Summary. A method of evaluating the composition of samples to be analyzed for their alcohol content is reported. The method lends itself to automation of gaschromatographic headspace analysis and is adaptable for computer evaluation. Differences in blood, bloody serum and serum are measured on the "apparent concentration" of the internal standard which in turn is dependent on the composition of the sample. The linear dependency permits the use of a floating factor for each sample and takes into account the water content as well as the sodium fluoride content (if any) of the specimen.

Zusammenfassung. Es wird eine automatisierungsfreundliche Methode zur Differenzierung von Untersuchungsmaterial für die gaschromatographische Blutalkoholdampfraumanalyse beschrieben. Die Unterscheidung zwischen Blut, blutigem Serum und Serum erfolgt dabei an Hand der scheinbaren Konzentration des inneren Standards in der Dampfphase, die von der Beschaffenheit des Untersuchungsmaterials abhängig ist. Durch diese lineare Abhängigkeit wird gleichzeitig die Anwendung eines gleitenden Faktors an Stelle der bisher benützten Faktoren ermöglicht und damit auch dem Wassergehalt und dem eventuellen Natriumfluoridgehalt der Probe Rechnung getragen.

Key words: Blutalkoholbestimmung, durch computergesteuerte Gaschromatographie — Gaschromatographie, Alkoholbestimmung.

Obwohl die Automatisierung der gaschromatographischen Blutalkoholbestimmung selbst bereits zufriedenstellend gelöst ist [1, 2], mußte die Beschaffenheit der Blutproben nach wie vor durch eine Fachkraft visuell beurteilt werden, um bei der Berechnung des Resultates die entsprechenden Korrekturfaktoren einzusetzen zu können. Solange die Berechnung der Resultate noch manuell an Hand des Schreiberdiagramms erfolgte, bedeutete diese Vorgangsweise keine nennenswerte Verlängerung des Arbeitsvorganges. Durch die Einführung der on-line-Auswertung durch Anschluß eines Prozeßrechners [3] ergab sich jedoch die Notwendigkeit, auch die Beurteilung der Blutproben automatisch vorzunehmen, um die Parametereingabe für die einzelnen Analysenchargen so kurz wie möglich zu

* Ich danke Herrn Prof. Dr. G. Machata für seine Unterstützung, Fr. B. Pötscher für die Durchführung eines Teils der experimentellen Arbeit und dem Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung für die materielle Förderung dieses Projektes.

gestalten. Da eine aktive Probenidentifizierung bei dem verwendeten System nicht vorgesehen ist, aus Kostengründen auch nicht nachträglich implementiert werden konnte, und eine manuelle Eingabe der Korrekturfaktoren für jede einzelne Probe einen Großteil der durch den Prozeßrechner erreichbaren Zeitersparnis egalisiert hätte, wurde nach einer Möglichkeit gesucht, die Beurteilung der Blutproben und die Auswahl des richtigen Korrekturfaktors zur Resultatberechnung durch geeignete Verarbeitung der Information, die die gaschromatographische Analyse liefert, zu erzielen.

An Hand einer kritischen Durchmusterung unserer BAK-Routinebestimmungen boten sich zwei Unterscheidungsmerkmale an: einerseits der Analysenwert für Acetaldehyd (Peakhöhe oder Peakfläche) und andererseits die scheinbare Konzentration des inneren Standards.

Machata u. Prokop [4] konnten zeigen, daß der Gehalt an Acetaldehyd während der Alkoholaufnahme und der Resorption für einzelne Versuchspersonen relativ konstant ist und auch über den Zeitraum des Alkoholabbaus im Organismus konstant bleibt. Bei Betrachtung einer größeren Anzahl von Analysenresultaten liegt der Gehalt an Acetaldehyd unabhängig von der Alkoholkonzentration zwischen 0,015 und 0,035%₀₀. Zunächst wurde daher auf diesen Befunden eine Blutprobendifferenzierungsmethode aufgebaut, bei welcher die Proben nach folgendem Schema eingeordnet wurden:

Vollblut	> 0,015% ₀₀ Acetaldehyd
blutiges Serum	0,005—0,015% ₀₀ Acetaldehyd
Serum	< 0,005% ₀₀ Acetaldehyd

Diese Beurteilungsmethode brachte eine nahezu fehlerfreie Korrelation zur visuellen Beurteilung, die zur Kontrolle weiterhin durchgeführt wurde. Lediglich bei sehr geringen Alkoholgehalten (< 0,3%₀₀) und bei mit Natriumfluorid versetzten Blutproben ergaben sich mitunter Diskrepanzen zum augenscheinlichen Zustand der Probe.

Um die Typerkennung weiter zu verfeinern, wurde nun die scheinbare Änderung der Konzentration des inneren Standards näher untersucht. Dabei fällt auf, daß sich bei Vollblut ein relativ größerer Peak zeigt als bei Serum, bei diesem wiederum ein relativ größerer als bei den wäßrigen Testlösungen. Experimentell konnte festgestellt werden, daß die Peakhöhe des inneren Standards für Serumproben rund 108%, für Vollblutproben jedoch rund 118% der Peakhöhe für wäßrige Lösungen betrug.

Eine Erklärung dafür ist wohl im verschiedenen Wassergehalt der Proben zu suchen. Da nach Grüner [5] der Alkoholgehalt einer Blutprobe von ihrem Wassergehalt abhängig ist und diese Erscheinung parallel zu der scheinbaren Konzentrationsänderung des inneren Standards in der Probenlösung verläuft, konnte die Peakhöhe des inneren Standards, die ein Maß für seine Konzentration im wäßrigen Probenanteil ist, als Kriterium für die Zuordnung des richtigen Korrekturfaktors zur Berechnung des Alkoholgehaltes herangezogen werden. Wird die Konzentration des inneren Standards in der wäßrigen Lösung gleich 100% gesetzt, so fanden wir für einwandfreie Sera im Durchschnitt eine Konzentration von 108% und für Vollblute (je 8 ml Vollblut wurden bei der Abnahme mit 10 mg Heparin ungerinnbar gemacht) im Durchschnitt 118%.

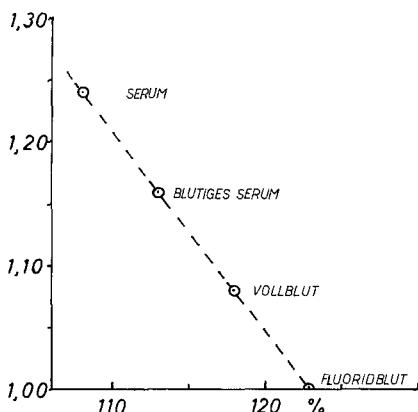


Abb. 1. Korrekturfaktor (Ordinate) zur Berücksichtigung der Beschaffenheit der Blutprobe in Abhängigkeit vom prozentualen Verhältnis der Peakhöhen des inneren Standards in Probe und wässriger Testlösung

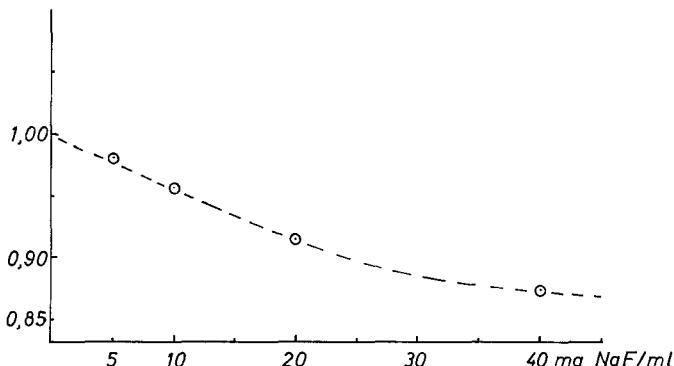


Abb. 2. Korrektur für die scheinbare Alkoholkonzentrationsänderung bei Zusatz von Natriumfluorid

Die Auswertung erfolgt nun derart, daß zunächst aus den Resultaten von 4 Testlösungen (Merck) ein Mittelwert für die Peakhöhe des inneren Standards in wässriger Lösung errechnet wird. Die Auswertung der folgenden Blutproben erfolgt im Computer durch eine einfache Regressionsrechnung an Hand der in Abb. 1 dargestellten Werte. Selbstverständlich ist auch eine manuelle Auswertung an Hand des Schreiberdiagrammes oder an Hand eines Integratorausdruckes möglich.

Abgesehen von den bereits beschriebenen Korrekturfaktoren für Sera bzw. Vollblute mußte auch eine zusätzliche Korrektur für mit Natriumfluorid versetzte Blutproben eingeführt werden [6], da ein Zusatz von NaF die Dampfdrucke von Äthanol und t-Butanol (dem inneren Standard) ungleich beeinflußt. Versuche mit Periston-N-Lösungen, die auf einen Gehalt von 2,0% Alkohol eingestellt waren, zeigten, daß mit steigendem Natriumfluoridzusatz der Dampfdruck des t-Butanols stärker steigt als jener des Alkohols (Abb. 2). Eine generelle Berücksichtigung durch Einführung eines starren Fluoridkorrekturfaktors erschien nicht zielführend,

Tabelle 1. Differenzen-*t*-Test

	0,5—1,0	1,0—1,5	1,5—2,0	2,0—2,5
TAU _(GA,W)	3,3456	4,0185	5,4642	5,6991
Unterschied	signifikant	signifikant	signifikant	signifikant
TAU _(GN,W)	1,5480	0,6595	1,9333	0,2355
Unterschied	nicht feststellbar	nicht feststellbar	nicht feststellbar	nicht feststellbar
S _(GA,W)	0,0656	0,0716	0,0974	0,1145
S _(GN,W)	0,0557	0,0558	0,0669	0,0757

$$t_{(95\%)} = 2,009; t_{(99\%)} = 2,678; t_{(99,9\%)} = 3,496.$$

da in der Praxis der Blutabnahme sowohl große Unterschiede in der abgenommenen Menge auftreten, als auch oftmals eine ausreichende Auflösung des in der Venüle enthaltenen Natriumfluorids (80 mg/Venüle zu 10 ml) unterlassen wird. Da jedoch festgestellt werden konnte, daß die durch den Fluoridzusatz verursachte scheinbare Konzentrationsänderung eine ähnliche Abhängigkeit der Peakhöhe des inneren Standards ergibt wie der Wassergehalt der Blutprobe, konnte die Fluoridkorrektur mit der ursprünglichen Korrektur für Sera bzw. Vollblute zu einer Gesamtkorrektur zusammengefaßt werden. Somit läßt sich der Gesamtkorrekturfaktor durch einfache Regressionsrechnung aus dem Verhältnis der Peakhöhen des inneren Standards in Probe- bzw. wäßrigen Testlösungen ermitteln (Abb. 1).

Ein Vergleich der so erhaltenen gaschromatographischen Blutalkoholwerte mit den parallel dazu bestimmten Widmark-Werten ergab bei 50 Proben, bei denen nur Voll- bzw. mit NaF versetzte Blutproben berücksichtigt wurden, eine Standardabweichung von 0,105. Bei Berechnung der gleichen Blutproben nach der alten Berechnungsmethode ergab sich eine Standardabweichung von 0,147.

Zur statistischen Überprüfung dieser Ergebnisse wurden aus 2800 Blutalkoholroutinebestimmungen je 50 Proben mit Werten im Bereich 0,5—1,0%₀₀, 1,0—1,5%₀₀, 1,5—2,0%₀₀ und 2,0—2,5%₀₀ einem Differenzen-*t*-Test [7] unterzogen. Die Auswahl der Stichproben erfolgte derart, daß aus jeder Charge (eine Charge umfaßt im Durchschnitt 12—13 Blutproben) eine Probe ausgewählt wurde, die in einen der genannten Bereiche fiel. Die Standardabweichungen und die Resultate des Differenzen-*t*-Tests sind aus Tabelle 1 ersichtlich.

Diskussion

Wie die Beurteilung der Proben durch den Differenzen-*t*-Test ergibt, besteht zwischen den Ergebnissen der konventionellen Berechnungsmethode (GA) (mit visueller Differenzierung der Probentypen als Blut, blutiges Serum und Serum) und den korrespondierenden Widmarkwerten (W) ein signifikanter Unterschied ($TAU_{1,3} > t_{(99\%)}$), während zwischen den Werten, die mit Hilfe des gleitenden Faktors errechnet wurden (GN) und den entsprechenden Widmarkwerten ein Unterschied auf Grund dieses Tests nicht feststellbar ist ($TAU_{2,3} < t_{(95\%)}$). Diese Aussage wird auch durch die Standardabweichungen bestätigt. Bei Berücksichtigung des gleitenden Faktors auch für die Berechnung der Widmarkwerte wäre eine noch bessere Übereinstimmung der Resultate erzielbar, da dort die Berechnung

nur mit diskontinuierlichen Werten (Blut, Serum, blutiges Serum) durchgeführt wird.

Da die scheinbare Konzentrationsänderung des inneren Standards, abgesehen von der durch Natriumfluoridzusatz bewirkten Dampfdruckänderung, in der Hauptsache vom Wassergehalt der Blutprobe abhängt, kann bei Verwendung dieser Berechnungsmethode auf die von Brettel [8] geforderte Wassergehaltsbestimmung bei der Untersuchung von Leichenbluten verzichtet und der schwankende Wassergehalt automatisch berücksichtigt werden.

Literatur

1. Machata, G.: Über die gaschromatographische Blutalkoholbestimmung. *Blutalkohol* **4**, 252 (1967); **7**, 345 (1970).
2. Jentzsch, D., Krüger, H., Lebrecht, G.: Leistungsfähigkeit und Anwendbarkeit des GC-Automaten Multifract F 40. *Angewandte Gas-Chromatographie*, hrsg. von der Bodenseewerk Perkin-Elmer und Co. Ges. mbH, Überlingen. Heft 9 (1967).
3. Battista, H. J.: Computerized blood alcohol analysis. *Chromatographia* **5**, 206 (1972).
4. Machata, G., Prokop, L.: Alkoholabbau und Acetaldehyd. *Blutalkohol* **8**, 281 (1971).
5. Grüner, O.: Die Verteilung des Alkohols im Blut. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **46**, 10—17 (1957).
6. Hauck, G., Terfloth, H. P.: Untersuchungen zur automatischen Blutalkoholbestimmung nach der „head space“-Methode. *Chromatographia* **2**, 309 (1969).
7. Kaiser, R., Gottschalk, G.: Elementare Tests zur Beurteilung von Meßdaten, Bd. 774. Mannheim: BI-Hochschultaschenbücher 1972.
8. Brettel, H.-F.: Erfahrungen mit Wassergehaltsbestimmungen bei Leichenblut. *Blutalkohol* **6**, 439 (1969).

Dr. Hans-J. Battista
Hanusch-Krankenhaus
Zentrallaboratorium
A-1140 Wien, Heinrich Collin-Straße 30
Österreich