

Übersichtsarbeit

Alkoholmarker bei klinischen und forensischen Fragestellungen

Hilke Andresen-Streichert*, Alexander Müller*, Alexander Glahn, Gisela Skopp*, Martina Sterneck*

Zusammenfassung

Hintergrund: Alkoholmarker spielen nicht nur im forensischen Kontext, zum Beispiel bei Sorgerechtsprozessen oder zum Nachweis einer Alkoholabstinenz nach Führerscheinentzug, eine wesentliche Rolle. Auch in der Klinik werden Alkoholmarker zunehmend eingesetzt, um eine Alkoholabstinenz zu verifizieren oder einen schädlichen Alkoholkonsum auszuschließen.

Methode: Es erfolgte eine selektive Literaturrecherche in PubMed zu den hier vorgestellten direkten und indirekten Alkoholmarkern. Zusätzlich flossen analytische und klinische Erfahrungen der Autoren in die Arbeit ein.

Ergebnisse: Neben dem Nachweis von Ethanol stehen die klassischen indirekten Alkoholmarker kohlenhydratdefizientes Transferrin (CDT), Gammaglutamyltransferase (GGT) und mittleres korpuskuläres Volumen (MCV) sowie weitere direkte Alkoholmarker wie Ethylglukuronid (EtG) und Ethylsulfat (EtS) im Serum sowie Urin, EtG und Fettsäureethylester (FAEE) im Haar zur Verfügung. Das Phosphatidylethanol (PEth) scheint ein vielversprechender Parameter zu sein, der mit hoher Spezifität (48–89 %) und Sensitivität (88–100 %) das bisherige Spektrum sinnvoll ergänzt. Im klinischen Alltag zeigt sich, dass der Nachweis von positiven Alkoholmarkern häufig dazu führt, dass Patienten einen zuvor negierten Alkoholkonsum einräumen. Damit wird die Möglichkeit eröffnet, den Patienten an eine Suchttherapie heranzuführen.

Schlussfolgerungen: Die verfügbaren Alkoholmarker besitzen unterschiedliche Sensitivitäten und Spezifitäten in Bezug auf die Nachweiszeiträume sowie das nachweisbare Ausmaß des Alkoholkonsums. Der zu bestimmende Marker beziehungsweise eine Kombination mehrerer Marker sollte daher entsprechend der konkreten Fragestellung der jeweiligen Überprüfung gewählt werden.

Zitierweise

Andresen-Streichert H, Müller A, Glahn A, Skopp G, Sterneck M: Alcohol biomarkers in clinical and forensic contexts. Dtsch Arztebl Int 2018; 115: 309–15.
DOI: 10.3238/arztebl.2018.0309

* Diese Autoren/innen teilen sich die Erst- beziehungsweise Letztautorenschaft.

Uniklinik Köln, Institut für Rechtsmedizin, Arbeitsbereich Toxikologie und Alkoholologie: PD Dr. rer. nat. Hilke Andresen-Streichert

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Institut für Rechtsmedizin, Arbeitsbereich Toxikologie und Alkoholologie: Dr. rer. nat. Alexander Müller

Medizinische Hochschule Hannover, Klinik für Psychiatrie, Sozialpsychiatrie und Psychotherapie: Dr. med. Alexander Glahn

Forensisch Toxikologisches Centrum München GmbH: Prof. Dr. rer. nat. Gisela Skopp

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Hepatobiliäre Chirurgie und Transplantations-Chirurgie: Prof. Dr. med. Martina Sterneck

Marker zum Nachweis einer Alkoholaufnahme oder eines schädlichen Alkoholgebrauchs bieten die Möglichkeit, Patienten- beziehungsweise Probandenangaben zum Alkoholkonsum zu objektivieren. Sie können in direkte und indirekte Marker eingeteilt werden. Direkte Marker entstehen, wenn Ethanol metabolisiert wird oder mit körpereigenen Substanzen reagiert. Indirekte Marker sind Enzyme beziehungsweise Zellen, die sich durch akuten oder chronischen Alkoholkonsum in typischer Weise verändern. Für bestimmte Fragestellungen, zum Beispiel in der Transplantationsmedizin (1) oder für die Fahreignungsbegutachtung (2), sind die mindestens zu bestimmenden Parameter beziehungsweise sogar das genaue Ladungsprozedere vorgegeben. Hingegen obliegt in anderen Fällen, wie beispielsweise in Angelegenheiten des Sorge- und Arbeitsrechts oder bei Begleitung eines Alkoholentzugs, die Wahl der Marker den zuständigen Ärzten oder Toxikologen.

Die Marker unterscheiden sich deutlich in der Dauer ihrer Nachweisbarkeit und dem Ausmaß des Alkoholkonsums, das zu einem positiven Ergebnis führt, aber auch in ihrer Spezifität. Medikamente oder Erkrankungen können die Analyse der Marker beeinflussen. Somit muss durch die Wahl sowohl die Fragestellung (maßvoller Alkoholkonsum oder Abstinenz) als auch das Ladungsprozedere (Zeitpunkt der Terminbekanntgabe) berücksichtigt werden.

Ziel dieser Arbeit ist es, einen Überblick über die zur Verfügung stehenden Alkoholmarker, ihre Aussagekraft und einen sinnvollen Einsatz in der Praxis zu geben.

Methode

Eine selektive Literaturrecherche in PubMed für den Zeitraum Januar 1958 bis August 2017 zu den hier vorgestellten direkten und indirekten Alkoholmarkern wurde durchgeführt. Zusätzlich flossen analytische und klinische Erfahrungen der Autoren in die Arbeit ein.

Nachweisbarkeit und Aussagekraft der Alkoholmarker

Ethanol und Methanol

Eine akute Alkoholisierung kann anhand der Blut- oder Atemalkoholkonzentration bestimmt werden. Im Urin ist Ethanol 10–12 Stunden nach Trinkende nicht mehr nachweisbar (e1). Ist der Proband mindestens 12 Stunden vor einer anstehenden Überprüfung darüber infor-

TABELLE 1

Spezifität und Sensitivität der Alkoholmarker bezogen auf die jeweils angegebene Trinkmenge

Parameter	Sensitivität	Spezifität	Trinkmenge	Quellen
MeOH	70 %	98 %	> 0,5 ‰ über mehrere Stunden	(8)
CDT	46–90 %	70–100 %	chronisch exzessives Trinken	(15) (e2) (14)
Gamma-GT	37–95 %	18–93 %	chronisch exzessives Trinken	(15)
AST	25–60 %	47–68 %	chronisch exzessives Trinken	(15)
ALT	15–40 %	50–57 %	chronisch exzessives Trinken	(15)
MCV	40–50 %	80–90 %	chronisch exzessives Trinken	(15)
CDT, MCV und Gamma-GT in Kombination	88 %	95 %	chronisch exzessives Trinken	(9)
EtG im Urin	100 %	n. a.	1,2 g/L BAK nach 24 h (Cut-off 100 ng/mL)	(20)
	50 bzw. 100 %	n. a.	0,2 g/L BAK nach 24 bzw. 12 h (Cut-off 100 ng/mL)	(20)
	89 %	99 %	Abstinenzkontrolle	(9)
EtG im Haar	75 %	96 %	chronisch exzessives Trinken (Cut-off 30 pg/mg)	(36)
FAEE im Haar	90–97 %	75–90 %	chronisch exzessives Trinken (abhängig vom Cut-off)	(33) (34)
PEth	88–100 %	48–89 %	siehe eTabelle	siehe eTabelle

ALT: Alanin-Aminotransferase; AST: Aspartat-Aminotransferase; BAK: Blutalkoholkonzentration; CDT: kohlenhydratdefizientes Transferrin; EtG: Ethylglukuronid; FAEE: Fettsäureethylester; Gamma-GT: Gammaglutamyltransferase; MCV: mittleres korpuskuläres Volumen; MeOH: Methanol; n.a.: nicht angegeben; PEth: Phosphatidylethanol
Die Grenzen zwischen einem risikoarmen und riskanten Alkoholkonsum liegen für gesunde erwachsene Männer und Frauen bei 24 g bzw. 12 g Reinalkohol pro Tag (e3). Als chronisch exzessives Trinken bezeichnet die Weltgesundheitsorganisation (WHO) einen durchschnittlichen täglichen Konsum von mindestens 60 g Ethanol pro Tag über mehrere Monate.

miert, kann er eine Detektion von Ethanol im Blut und Urin vermeiden, wenn er die Alkoholaufnahme rechtzeitig beendet.

In diesem Fall bringt der Nachweis von Methanol einen zusätzlichen Nutzen: Da die Affinität der Alkoholdehydrogenase zu Ethanol erheblich höher ist, kumuliert durch Getränke zugeführtes sowie endogen aus Pektinen gebildetes Methanol (Spannweite: 0,35–3,2 mg/L [3]) im Serum oberhalb einer Blutethanolkonzentration von 0,2–0,5 ‰ (4).

Basierend auf wissenschaftlichen Trinkversuchen wird eine Methanolkonzentration von > 10 mg/L als Marker für eine vorangegangene längerfristige, durchgehende Alkoholbelastung über zumindest zahlreiche Stunden angesehen (3). Nach Auswertung von Trinkversuchsdaten wurden 5 mg/L als Grenzwert inter-

pretiert, um zwischen Patienten mit beziehungsweise ohne eine Alkoholabhängigkeit zu differenzieren (Spezifität von 98 % [5]). In mehreren Studien wurde ein Grenzwert für eine zeitnahe Alkoholaufnahme von 5 mg/L angewendet (Trinkende maximal 1 Tag zuvor) (6–8).

Klinisch-chemische Parameter

Kohlenhydratdefizientes Transferrin

Eine übermäßige Alkoholaufnahme von > 50–80 g Ethanol pro Tag über mindestens 1–2 Wochen führt zu einem Verlust von Kohlenhydratseitenketten des Transferrins (9, 10). Kohlenhydratdefizientes Transferrin (CDT) ist ein spezifischer, jedoch nicht sehr empfindlicher Marker (Tabelle 1). Personen mit einem moderaten Konsum oder einem episodischen Trinkmuster weisen CDT-Werte im Normbereich auf. Ferner können aufgrund seltener genetischer Variationen falsch-positive Ergebnisse auftreten (11).

Mittleres korpuskuläres Volumen, Gammaglutamyltransferase, Aspartat- und Alanin-Aminotransferase
Eine Erhöhung des mittleren korpuskulären Volumens (MCV) der Erythrozyten und der Aktivität der Enzyme Aspartat-Aminotransferase (AST) sowie Alanin-Aminotransferase (ALT), insbesondere ein Verhältnis von AST/ALT > 2, und vor allem der Gammaglutamyltransferase-Aktivität (Gamma-GT) können auf einen riskanten Alkoholkonsum sowie eine alkoholinduzierte Leberschädigung hinweisen (12).

Vorteile dieser Marker sind die preiswerte routinemäßige Bestimmung in klinisch-chemischen Laboren (Tabelle 2). Darüber hinaus gehen sie erst mehrere Wochen nach Beendigung oder Reduzierung der Alkoholaufnahme wieder auf Normalwerte zurück (CDT: 2–3 Wochen; Gamma-GT: 2–6 Wochen; AST/ALT: 2–4 Wochen; MCV: 8–16 Wochen [12]). Ein Nachteil der indirekten Alkoholmarker ist ihre geringe Spezifität (Tabelle 1). Zum Beispiel können nichtalkoholinduzierte Lebererkrankungen, Medikamente oder eine Lebertransplantat-Dysfunktion die Werte ebenfalls erhöhen (e3–e5).

Diese Marker können zwar einen riskanten/exzessiven Alkoholkonsum nachweisen, sind zur Abstinenzkontrolle jedoch nicht geeignet, denn eine regelmäßige Aufnahme geringer Mengen Ethanol oder das sogenannte „binge drinking“ führen nicht zum Anstieg (9, 13) (Tabelle 3).

Ethylglukuronid und Ethylsulfat

Neben der oxidativen Metabolisierung entstehen aus Ethanol in geringem Umfang die Phase-II-Metabolite Ethylglukuronid (EtG; 0,02–0,06 % des aufgenommenen Alkohols) und Ethylsulfat (EtS; 0,010–0,016 %) (14). Nach Alkoholaufnahme sind sie bereits binnen kurzer Zeit (< 45 Minuten) im Blut nachweisbar. Die vom Umfang der Alkoholzufuhr abhängige Nachweisbarkeitsdauer von EtG im Serum übersteigt die des Ethanols um bis zu 8 Stunden (15). EtS ist im Serum etwa doppelt so lange nachweisbar wie Ethanol (16).

TABELLE 2

Verfügbarkeit der Analytik

Parameter	Verfügbarkeit der Analytik	Hinweise, die zu beachten sind
Atemalkohol	Atemalkoholgeräte ggf. vor Ort verfügbar	Das Ergebnis der Vortestgeräte* ¹ ist nicht gerichtsverwertbar. Die Geräte müssen regelmäßig kalibriert werden.
Blutalkohol	Standardparameter in klinisch-chemischen Laboratorien	Die enzymatische Methode ist alleine nicht gerichtsverwertbar. Gegebenenfalls sollten Proben an Labs mit zusätzlicher gaschromatographischer Analytik, z. B. Institut für Rechtsmedizin, versendet werden.
MeOH	Analytik in mehreren spezialisierten Laboratorien in Deutschland angeboten	Es werden unterschiedliche Cut-off-Werte angewendet.
CDT	Bestimmungsmethode in vielen klinisch-chemischen Laboratorien verfügbar	Mittels HPLC-Methode (% CDT) können genetisch bedingte Veränderungen der Transferrine verlässlicher diskriminiert werden.
Gamma-GT, AST, ALT, MCV	Standardparameter in klinisch-chemischen Laboratorien	Blutproben müssen noch am selben Tag im Labor untersucht werden.
EtG im Urin	bereits in vielen größeren oder spezialisierten Laboratorien angeboten, auch als immunologischer Assay erhältlich	Die immunologische Methode ist nicht gerichtsverwertbar. Bei positivem Vortest sollte eine Bestätigungsanalytik mittels chromatographischer Methode erfolgen.* ²
EtG im Serum	chromatographische Methode, nur in wenigen Laboratorien in Deutschland etabliert	Die Nachweisbarkeitsdauer ist kürzer als im Urin.
EtS im Urin	chromatographische Methode, in spezialisierten Laboratorien im Serum und im Urin messbar (häufig in EtG-Methode enthalten)	Komplementärer Parameter zu EtG im Urin, dessen Analyse nur in Kombination mit diesem sinnvoll ist.
EtG im Haar	Analytik in mehreren spezialisierten Laboratorien in Deutschland angeboten	Eine (etwa bleistiftdicke) Strähne wird am Hinterkopf entnommen. Dabei sollte ausreichend Material für Rückstellproben gesichert werden.
FAEE im Haar	Analytik in nur sehr wenigen Laboren etabliert; bei entsprechender Fragestellung Weiterleitung der EtG-Haarprobe möglich	Komplementärer Parameter zu EtG im Haar, der insbesondere bei strittigen Fällen heranzuziehen ist.
PEth	Analytik bisher in wenigen spezialisierten Laboratorien angeboten	Die korrekte Präanalytik ist sehr wichtig. Die Untersuchung erfolgt im Vollblut. Zudem ist die Gewinnung von „dried blood spots“ aus Stabilitätsgründen sinnvoll.

Weitere Details zur Analytik finden sich im *eMethodenteil*.

ALT: Alanin-Aminotransferase; AST: Aspartat-Aminotransferase; CDT: kohlenhydratdefizientes Transferrin; EtG: Ethylglukuronid; EtS: Ethylsulfat; FAEE: Fettsäureethylester; Gamma-GT: Gammaglutamyltransferase; HPLC: Flüssigkeitschromatographie; MCV: mittleres korpuskuläres Volumen; MeOH: Methanol; PEth: Phosphatidylethanol

*¹ Als Vortestgeräte werden – im Gegensatz zu beweissicheren Atemalkoholtestgeräten der Polizei – Geräte, die bei der patientennahen Sofortdiagnostik (POCT) eingesetzt werden, bezeichnet.

*² Beispielsweise kann eine Exposition mit 1-/2-propanolhaltigen Desinfektionszubereitungen sowie die Aufnahme von Chloralhydrat bekanntermaßen falsch-positive Ergebnisse bei der Anwendung immunchemischer Testverfahren bewirken (*eMethodenteil*).

EtG und EtS werden kurze Zeit (< 60 Minuten) nach Alkoholaufnahme auch im Urin ausgeschieden. Bereits nach Aufnahme geringer Mengen bleibt EtG bis circa 24 Stunden im Urin nachweisbar; nach exzessivem Konsum beträgt das Nachweisfenster bis zu 130 Stunden (17). Dadurch sind EtG und EtS im Urin die Kurzzeitmarker mit führender Sensitivität (Tabelle 1). Die Sensitivität ist abhängig von der Alkoholmenge, der Zeitdifferenz zwischen Probenabgabe und Alkoholaufnahme sowie dem angewendeten Methoden-Cut-off (6, 18, 19). Da die Konzentrationen im Urin diureseabhängig sind, führt die Aufnahme größerer Volumina an Wasser zu einem starken Konzentrationsabfall von EtG

und EtS im Urin. Daraus kann ein falsch-negatives Testergebnis resultieren (e6). Deshalb ist es sinnvoll, die EtS- und EtG-Werte im Urin auf dessen Kreatininhalt zu beziehen oder zumindest diesbezüglich eine Mindestanforderung, in der Regel > 20 mg/dL, zu stellen (e7).

Nachteilig ist jedoch, dass aufgrund der sehr hohen Sensitivität anhand des EtG-/EtS-Befundes im Urin ein bereits mehrere Tage zurückliegender Trinkexzess nicht von einer (möglicherweise unbeabsichtigten) geringfügigen Alkoholexposition wenige Stunden vor der Probenabnahme zu unterscheiden ist. Wenn konzentrierte ethanolische Mundspüllösungen (26,9 Volumen-

TABELLE 3

Anwendung der Alkoholmarker

Fragestellung	geeignete Parameter
Abstinenz	Ethanol* ¹ , EtG (Urin, Blut, Haare), MeOH, PEth
Ausmaß des Konsums	Ethanol* ¹ , EtG (Haare)
chronisch exzessives Trinken	EtG (Haare), FAEe (Haare), PEth, CDT* ² , MCV* ² , GGT* ² , AST* ² , ALT* ²
Probengewinnung/Terminierung	geeignete Parameter
spontane Überprüfung	Ethanol* ¹ , EtG/EtS (Blut, Urin)
sehr kurzfristig möglich (1–2 Tage)	EtG/EtS (Urin), Methanol, PEth
Termin längere Zeit vorher bekannt (z. B. postalische Ladung)	PEth, EtG (Haare), CDT* ² , MCV* ² , GGT* ² , AST* ² , ALT* ²
Probenmaterial	geeignete Parameter
Atemluft	Ethanol
Blut	Ethanol, MeOH, EtG/EtS, PEth, CDT* ² , MCV* ² , GGT* ² , AST* ² , ALT* ²
Trockenblutproben (DBS)	PEth
Urin	Ethanol, EtG/EtS
Haare	EtG, FAEe

ALT: Alanin-Aminotransferase; AST: Aspartat-Aminotransferase; CDT: kohlenhydratdefizientes Transferrin; DBS: Trockenblutprobe („dried blood spots“); EtG: Ethylglukuronid; EtS: Ethylsulfat; FAEe: Fettsäureethylester; GGT: Gamma-glutamyltransferase; MCV: mittleres korpuskuläres Volumen; MeOH: Methanol; PEth: Phosphatidylethanol

*¹ Atemalkohol (AAK) und Blutalkohol (BAK); Cave: AAK-Bestimmung ist nicht gerichtsverwertbar, Ethanol ist nur sehr kurz nachweisbar (< 12 h)

*² Eine Kombination der klinisch-chemischen Parameter erhöht deren Aussagekraft.

prozent [Vol.-%]) oder hoch konzentrierte ethanolische Desinfektionszubereitungen (60–96 Vol.-%) angewendet werden, wurden im Einzelfall positive Befunde im Urin beobachtet (e8, e9). Auch größere Volumina (zum Beispiel 2,5 L) eines alkoholfreien Bieres können positive Testergebnisse für EtG und EtS im Urin noch bis zu 20 Stunden nach Konsum bewirken; eine Deklarationspflicht besteht erst ab 0,5 Vol.-% (e10). Patienten beziehungsweise Probanden müssen im Vorfeld einer Überprüfung darauf hingewiesen und über entsprechendes Verhalten vor der Probennahme befragt werden.

Phosphatidylethanol

Phosphatidylethanol (PEth) ist ein abnormes Phospholipid, das nach Alkoholexposition in Zellmembranen von zum Beispiel humanen Erythrozyten gebildet wird (20). Es handelt es sich nicht um ein einziges Molekül, sondern um eine Gruppe von Glycerophospholipiden mit verschiedenen langen Fettsäureresten, die unterschiedliche Sättigungsgrade aufweisen. Bisher wurden in humanen Blutproben 48 PEth-Spezies identifiziert (e11). Das derzeit vorrangig für die Analytik verwendete PEth-Homologe 16:0/18:1 wird nach Alkoholaufnahme anteilig am meisten gebildet und vereinfacht als PEth bezeichnet (21, 22). PEth war in Trinkversuchen bereits nach 30 Minuten im Blut nachweisbar, maximale Werte an PEth wurden nach 90–120 Minuten erreicht

(23). Bei häufiger Alkoholaufnahme kumuliert PEth im Vollblut.

Die meisten Studien zu PEth erfolgten retrospektiv unter klinischen oder epidemiologischen Gesichtspunkten an alkoholkranken Personen in Entgiftungsbeziehungsweise Rehabilitationseinrichtungen oder auch an ausgewählten Kollektiven, wie zum Beispiel Patienten mit Lebererkrankungen, Schwangeren oder HIV-positiven (humanes Immundefizienz-Virus, [HIV]) Patienten. Wenige Studien erfolgten prospektiv und/oder experimentell an gesunden Probanden mit allenfalls moderatem Trinkverhalten und einer Aufnahme geringer Mengen an Alkohol (eTabelle).

Da PEth bereits nach circa 1–2 Stunden und bis zu maximal 12 Tagen auch nach einmaliger Alkoholaufnahme im Blut detektiert werden kann, eignet sich der Marker sowohl für den Nachweis eines aktuellen Konsums als auch für einen Abstinenzbeleg (24). Nach moderatem sowie riskantem Trinkverhalten über einen längeren Zeitraum, wie auch bei Alkoholrückfällen, ist die Aussagekraft von PEth etwas höher als von CDT und wird nur durch den Nachweis von EtG in Haaren übertroffen (25) (eTabelle). Allerdings lässt sich durch eine Analyse von PEth schneller erfassen, ob der Patient/Proband sein Trinkverhalten änderte.

Durch eine Konzentrationsbestimmung von PEth lässt sich ein täglicher Alkoholkonsum von mehr als 60 g Ethanol von einer geringeren Alkoholaufnahme eindeutig unterscheiden. PEth eignet sich daher, Personen mit chronisch exzessivem Trinkverhalten zu identifizieren (26). Zurzeit gibt es noch keine Festlegung, jedoch mehrere Empfehlungen zu entsprechenden Cut-offs.

Die Präanalytik und Analytik von PEth sind aufwendig; der Einsatz von Trockenblutproben, die Verfügbarkeit deuterierter Standards und moderner Analysetechnologien erlauben jedoch heute bereits seine routinemäßige Bestimmung. Mittels PEth kann ein chronischer, aber auch ein einmaliger Alkoholkonsum nachgewiesen werden, weshalb sich dieser Marker gut zur Überwachung von Abstinenz und Trinkverhalten sowie zur Aufdeckung eines Rückfalls eignet. Daher sollte dieser aussagekräftige Marker wie in Schweden auch in Deutschland Einzug ins klinische Labor halten (27).

Alkoholmarker im Haar

Ethylglukuronid im Haar

Das Ausmaß des Alkoholkonsums und die EtG-Konzentrationen im Haar sind eng miteinander korreliert (28, 29). Der Nachweis von EtG im Haar bietet zwei Vorteile:

- Mit einem proximalen 3–6 cm langen Haarsegment kann retrospektiv ein Zeitraum von mehreren Monaten überprüft werden.
- Ein kurzfristig reduzierter Alkoholkonsum hat keinen Einfluss auf das Analyseergebnis.

Die EtG-Analyse ermöglicht somit, einen chronischen schädlichen Alkoholkonsum, der die Genese einer Steatosis hepatis oder einer Zirrhose erklären kann,

zu erfassen. Im forensischen Setting kann der Einsatz dieses langfristigen Markers eine wiederholte kurzfristige Kontrolle eines Probanden/Patienten vermeiden.

Auf der Basis international gültiger Grenzwerte kann eine Abstinenz überprüft (EtG im Haar < 7 pg/mg) sowie ein chronisch exzessives Trinken mit einem Konsum von mehr als 60 g Ethanol pro Tag erkannt werden (> 30 pg/mg). Ein Wert zwischen 7 und 30 pg EtG/mg Haar wird als starker Hinweis auf einen regelmäßigen Alkoholkonsum gewertet (30).

Fettsäureethylester

Fettsäureethylester (FSEE oder FAEE) werden in Anwesenheit von Ethanol, zum Beispiel aus Triglyceriden oder freien Fettsäuren, unter der Wirkung spezifischer FAEE-Synthasen und anderer Enzyme gebildet. Diese nichtoxidativen Stoffwechselprodukte von Ethanol können im Blut, im Gewebe und auch im Haar nachgewiesen werden. Quantitativ analysiert wird das Ethylpalmitat, weitere Parameter können zusätzlich gemessen werden (31, 32). FAEE kann neben EtG im Haar als Plausibilitätskontrolle bestimmt werden, nicht jedoch als alleiniger Parameter, um eine Abstinenz zu überprüfen. Als Cut-off für eine Abstinenz werden 0,12 ng/mg im proximalen 3-cm-Haarabschnitt gewertet. Ein Wert von 0,35 ng/mg gilt als starker Hinweis auf einen chronisch exzessiven Konsum (30).

Für EtG und FAEE im Haar gilt, dass bei negativen Ergebnissen eine nur gelegentliche Aufnahme von Alkohol nicht ausgeschlossen werden kann. Eine behauptete Abstinenz kann somit nicht belegt, sondern allenfalls widerlegt werden. Zu beachten ist, dass eine Untersuchung von 3 bis maximal 6 cm langen proximalen Haarabschnitten empfohlen wird. Andernfalls müssen die quantitativen Ergebnisse mit großer Vorsicht interpretiert werden (30). Ausgegangen wird von einem durchschnittlichen Wachstum des Haares von circa 1 cm/Monat. Bei der Interpretation müssen der nicht erfasste intradermale Haarabschnitt und das zyklische Wachstum des Haares berücksichtigt werden (33).

Eine kosmetische Behandlung der Haare (Tönen, Färben, Bleichen, Dauerwelle, Glätten) kann die Konzentration der Analyten deutlich verringern. Ethanolhaltige Haarpflegeprodukte haben keinen Einfluss auf EtG, führen jedoch möglicherweise zu falsch-positiven FAEE-Resultaten (34–36).

Klinischer Nutzen von Alkoholmarkern

In der Klinik werden Alkoholmarker zunehmend eingesetzt, um Alkoholabstinenz zu objektivieren oder schädlichen Alkoholkonsum auszuschließen. Die Kosten für die Analysen werden gemäß Gebührenordnung für Ärzte abgerechnet und von den Krankenkassen übernommen.

Der Nachweis eines schädlichen Alkoholgebrauchs (S3-Leitlinie: Screening, Diagnose und Behandlung alkoholbezogener Störungen [e12]), eines chronisch exzessiven Trinkens oder einer Alkoholabhängigkeit, zum Beispiel mit Craving, Kontrollverlust oder Toleranzent-

KASTEN

Fallbeispiel 1

Der 55-jährige männliche Patient mit Child-B-Zirrhose und hepatozellulärem Karzinom innerhalb der UNOS-T2-Kriterien stellte sich zur Lebertransplantation bei zugrunde liegender ethyltoxischer Leberzirrhose erstmals im Januar 2016 vor. Der Patient berichtete über einen Alkoholkonsum von einer halben Flasche Schnaps pro Tag plus mehreren Bieren bis zur Diagnosestellung der Zirrhose im Dezember 2014. Das vor Transplantation geforderte halbe Jahr Alkoholabstinenz war somit laut Patientenangaben erreicht. Auffällig im Labor waren jedoch folgende Werte: Bilirubin 10,7 mg/L, AST 111 U/L, ALT 126 U/L und Gamma-GT 1 347 U/L. Die nach Einwilligung des Patienten bestimmten Alkoholmarker in Serum und Urin ergaben keinen Hinweis auf einen aktuellen Alkoholkonsum: Urin-EtG negativ, Ethanol 0 ‰, Methanol 1,3 mg/L (Cut-off 5 mg/L) und CDT mit 1,4 %. Im Haar wurde allerdings in einer 3 cm langen Strähne ein extrem hoher Wert von 149 pg EtG/mg nachgewiesen, was auf einen Alkoholkonsum in den letzten 3–6 Monaten hindeutete. In der erneuten psychologischen Evaluation gab der Patient nach Konfrontation mit diesem Wert einen Alkoholkonsum bis Dezember 2015 zu. Der Patient wurde in ein Suchtprogramm aufgenommen und aufgrund ungünstiger psychologischer Beurteilung zunächst nicht in die Liste für eine Lebertransplantation aufgenommen.

ALT: Alanin-Aminotransferase (Normwert < 50 U/L);
AST: Aspartat-Aminotransferase (Normwert < 50 U/L);
CDT: kohlenhydratdefizientes Transferrin (Cut-off 2,6 %);
EtG: Ethylglukuronid (Cut-off 0,5 mg/L im Urin; Cut-off 30 pg/mg Haare);
Gamma-GT: Gammaglutamyltransferase (Normwert < 60 U/L);
UNOS: United Network of Organ Sharing

wicklung (vergleiche internationale Klassifikation der Krankheiten [ICD] 10 [e13]), sollte eine enge ärztliche und/oder psychiatrische Überwachung zur Folge haben. Dadurch sollen sowohl das Risiko einer Organerkrankung als auch weitere medizinische, soziale und psychologische Probleme reduziert werden (e14). Wünschenswert wäre die Überweisung an eine/n Suchtmediziner/in oder eine Ärztin/einen Arzt mit einer Zusatzbezeichnung für suchtmmedizinische Grundversorgung. Patienten mit alkoholischer Leberzirrhose, bei denen eine Abstinenz erzielt werden kann, haben eine signifikant bessere Überlebensrate als Patienten, die weiter Alkohol konsumieren (37). In einer prospektiven Kohortenstudie stieg bei Abstinenz die 1-Jahresüberlebensrate von 63 % auf 95 % und die 5-Jahres-Überlebensrate von 36 % auf 61 % (38).

Bei Alkoholentzugs- oder Entwöhnungsprogrammen ist eine Analyse von EtG im Urin geeignet, um Rückfälle zu detektieren (39, 40). Im Bereich der Lebertransplantation kommen Alkoholmarker bereits regelmäßig zum Einsatz, um eine Alkoholabstinenz vor-

Kernaussagen

- Um eine Abstinenz zu überprüfen, eignen sich neben Ethylglukuronid (EtG) im Urin vor allem Phosphatidylethanol (PEth) im Blut und EtG im Haar. Mithilfe von EtG im Haar kann, je nach Haarlänge, der Alkoholkonsum retrospektiv über mehrere Monate eingeschätzt werden.
- Sowohl bei Alkoholentzugs- oder Entwöhnungsprogrammen als auch bei Abstinenzkontrollen vor geplanten Lebertransplantationen beziehungsweise der Aufnahme auf die Warteliste ist EtG im Urin ein geeigneter Parameter.
- Die klinisch-chemischen Parameter Alanin-Aminotransferase (ALT), Aspartat-Aminotransferase (AST) und Gammaglutamyltransferase sind vor allem dafür geeignet, eine bereits eingetretene ethyltoxische Leberschädigung zu erkennen. Sie weisen jedoch eine vergleichsweise geringe Spezifität auf.
- Eine Kombination verschiedener Marker und Matrices ist oft sinnvoll, da ihnen unterschiedliche Pathomechanismen zugrunde liegen.
- Die Ergebnisse der Alkoholmarker sollten nie isoliert, sondern immer im Kontext aller relevanten Faktoren wie dem klinischen Bild, der Anamnese und dem psychischen sowie physischen Gesundheitszustand betrachtet werden.

Listung zur Transplantation zu verifizieren, Patienten auf der Warteliste zu überwachen oder nach Transplantation Rückfälle rechtzeitig zu erkennen. Die Richtlinien der Bundesärztekammer zur Wartelistenführung von Patienten vor Lebertransplantation fordern verpflichtend, dass EtG im Urin vor der Aufnahme auf die Warteliste sowie während der Wartezeit auf ein Organ bestimmt wird (1). Im Falle eines positiven Urin-EtG-Befundes wird der Patient von seinem behandelnden Arzt mit dem Ergebnis konfrontiert sowie zusätzlich erneut dem auf Alkoholkrankung spezialisierten Psychologen beziehungsweise Psychiater des Transplantationsprogramms vorgestellt. Erfahrungsgemäß räumen in dieser Situation viele Patienten den vorher negierten Alkoholkonsum ein und sind gegenüber einer Suchttherapie aufgeschlossener. Ist dies nicht der Fall, entscheidet die lokale interdisziplinäre Transplantationskonferenz, wie zu verfahren ist: Entweder wird der Patient nicht gelistet beziehungsweise von der Transplantationswarteliste gestrichen oder sein Status wird nur zeitweilig zur weiteren Verlaufskontrolle inaktiviert. Hervorzuheben ist, dass diese Entscheidung nicht allein auf einem Nachweis des Alkoholmarkers basiert, sondern immer im Hinblick auf alle Befunde, inklusive Anamnese, psychologisch/psychiatrisches Gutachten, weitere Labor-/Alkoholparameter, gegebenenfalls Leberhistologie und Prognose des Patienten. Um die Möglichkeit eines falsch-positiven EtG-Befundes, beispielsweise durch die Aufnahme alkoholhaltiger Lebensmittel, gering zu halten, wird in der Transplantationsmedizin ein Cut-off-Wert von 0,5 mg/L statt 0,1 mg/L verwendet (1, 6, 18). Außerdem werden die Patienten vorab ausführlich darüber aufgeklärt, dass sie auch geringe Mengen Alkohol in Lebensmitteln wie in Süßspeisen oder Soßen unbedingt meiden müssen.

Um Patienten mit einer ursprünglich ethyltoxischen Zirrhose nach Transplantation zu überwachen, erwiesen sich Alkoholmarker als sehr nützlich. Dadurch kann ein Alkoholrückfall besser detektiert werden als

durch das ärztliche Gespräch, die Selbstangaben des Patienten oder erhöhte Leberwerte (6, 7). Ziel ist es, den Patienten zur Abstinenz zu motivieren, um einen irreversiblen Schaden des Transplantats zu vermeiden. In einer kürzlich abgeschlossenen Studie konnte der diagnostische Vorteil des Alkoholmarkers PEth im Transplantationssetting belegt werden (25). Die Fallbeispiele im *Kasten* und *eKasten* illustrieren den Nutzen der Alkoholmarker in der Transplantationsmedizin.

Genauso dienen Alkoholmarker prinzipiell dazu, die Genese einer Steatosis hepatis oder einer Leberzirrhose zu bestimmen. Hier darf jedoch nicht außer Acht gelassen werden, dass Alkohol häufig nur ein Kofaktor für eine Lebererkrankung ist und weitere Ursachen unbedingt ebenfalls diagnostisch evaluiert werden sollten.

Schlussfolgerung

Der klinische Einsatz der Alkoholmarker ist hilfreich, um den tatsächlichen Alkoholkonsum eines Patienten einschätzen zu können. Die Kenntnis hierüber sollte dazu genutzt werden, die Patienten so zu unterstützen, dass Alkoholfolgeschäden vermieden werden.

Die einfache und kostengünstige Bestimmung von EtG im Urin eignet sich besser als Ethanol, um in Entwöhnungsprogrammen, bei Patienten auf der Transplantationswarteliste, im forensischen Setting, aber auch in der hausärztlichen Verlaufskontrolle, die angegebene aktuelle Alkoholabstinenz zu prüfen. Durch Kombination mit CDT sowie zukünftig gegebenenfalls auch PEth kann darüber hinaus ein schädlicher Alkoholkonsum der vorangegangenen 1–2 Wochen erfasst werden. Ogleich EtG im Haar am aussagekräftigsten ist, um chronischen schädlichen Alkoholkonsum zu erfassen, wird der Marker häufig nur in speziellen Situationen wie bei forensischer Fragestellungen bestimmt.

Hervorzuheben ist, dass die Ergebnisse der Alkoholmarker nie isoliert, sondern stets im Kontext mit der Anamnese, der Klinik sowie dem psychischen und physischen Gesundheitszustand des Patienten betrachtet werden sollten.

Interessenkonflikt

Die Autoren erklären, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Manuskriptdaten

eingereicht: 4. 10. 2017, revidierte Fassung angenommen: 19. 2. 2018

Literatur

- Bundesärztekammer: Richtlinien zur Organtransplantation gem. § 16 TPG Richtlinie gemäß § 16 Abs. 1 S. 1 Nm. 2 u. 5 TPG für die Wartelistenführung und Organvermittlung zur Lebertransplantation. www.bundesaerztekammer.de/fileadmin/user_upload/downloads/pdf-Ordner/RL/RiliOrgaWIOvLeberTx2015121011.pdf (last accessed on 29 September 2017).
- Schubert W, Mattern R, Brenner-Hartmann J: Beurteilungskriterien: Urteilsbildung in der medizinisch-psychologischen Fahreignungsdiagnostik. 3th edition. Bonn: Kischbaum Verlag 2013; 244–76.
- Gilg T, Deinel H, Grundner H, Soyka M: Stellenwert der Begleitstoffanalytik (Methanol, Isopropanol) und CD-Transferrin (CDT) in der Alkoholismusdiagnostik. In: Soyka M (ed.): Biologische Alkoholismuskriterien. Weinheim: Chapman & Hall 1995: 45–92.
- Haffner H, Banger M, Graw M, Besserer K, Brink T: The kinetics of methanol elimination in alcoholics and the influence of ethanol. *Forensic Sci Int* 1997; 89: 129–36.
- Huckenbeck W, Bonte W: Alkoholologie. In: Handbuch gerichtliche Medizin. Band 2. Berlin/Heidelberg/New York: Springer 2003; 519–27.
- Staufer K, Andresen H, Vettorazzi E, Tobias N, Nashan B, Sterneck M: Urinary ethyl glucuronide as a novel screening tool in patients pre- and post-liver transplantation improves detection of alcohol consumption. *Hepatology* 2011; 54: 1640–9.
- Andresen-Streichert, von Rothkirch G, Vettorazzi E, et al.: Determination of ethyl glucuronide in hair for detection of alcohol consumption in patients after liver transplantation. *Ther Drug Monit* 2015: 539–45.
- Sterneck M, Yegles M, von Rothkirch G, et al.: Determination of ethyl glucuronide in hair improves evaluation of long-term alcohol abstinence in liver transplant candidates. *Liver Int* 2014: 469–76.
- Helander A: Biological markers in alcoholism. *J Neural Transm Suppl* 2003; 66: 15–32.
- Stibler H: Carbohydrate-deficient transferrin in serum: a new marker of potentially harmful alcohol consumption reviewed. *Clin Chem* 1991; 37: 2029–37.
- Anttila P, Jarvi K, Latvala J, Blake J, Niemela O: Diagnostic characteristics of different carbohydrate-deficient transferrin methods in the detection of problem drinking: effects of liver disease and alcohol consumption. *Alcohol Alcohol* 2003; 38: 415–20.
- Jastrzębska I, Zwiolak A, Szczyrek M, Wawryniuk A, Skrzydło-Radomska B, Daniluk J: Biomarkers of alcohol misuse: recent advances and future prospects. *Prz Gastroenterol* 2016; 11: 78–89.
- Dettling A, Zorn M, Haffner H: Laborwerte bei Alkoholabstinenz und sozialen Alkoholtrinkgewohnheiten. *Rechtsmedizin* 2017; 27: 510–5.
- Schneider H, Glatt H: Sulpho-conjugation of ethanol in humans in vivo and by individual sulphotransferase forms in vitro. *Biochem J* 2004; 383: 543–9.
- Schmitt G, Droenner P, Skopp G, Aderjan R: Ethyl glucuronide concentration in serum of human volunteers, teetotalers, and suspected drinking drivers. *J Forensic Sci* 1997; 42: 1099–102.
- Halter C, Dresen S, Auwaerter V, Wurst F, Weinmann W: Kinetics in serum and urinary excretion of ethyl sulfate and ethyl glucuronide after medium dose ethanol intake. *Int J Legal Med* 2008; 122: 123–8.
- Helander A, Böttcher M, Fehr C, Dahmen N, Beck O: Detection times for urinary ethyl glucuronide and ethyl sulfate in heavy drinkers during alcohol detoxification. *Alcohol Alcohol* 2009; 44: 55–61.
- Jatlow P, Agro A, Wu R, et al.: Ethyl glucuronide and ethyl sulfate assays in clinical trials: interpretation, and limitations: results of a dose ranging alcohol challenge study and 2 clinical trials. *Alcohol Clin Exp Res* 2014; 38: 2056–65.
- Albermann M, Musshoff F, Doberentz E, Heese P, Banger M, Madea B: Preliminary investigations on ethyl glucuronide and ethyl sulfate cutoffs for detecting alcohol consumption on the basis of an ingestion experiment and on data from withdrawal treatment. *Int J Legal Med* 2012; 126: 757–64.
- Alling C, Gustavsson L, Anggard E: An abnormal phospholipid in rat organs after ethanol treatment. *FEBS Lett* 1983; 152: 24–8.
- Helander A, Zheng Y: Molecular species of the alcohol biomarker phosphatidylethanol in human blood measured by LC-MS. *Clin Chem* 2009; 55: 1395–405.
- Kechagias S, Dermoth D, Blomgren A, et al.: Phosphatidylethanol compared with other blood tests as a biomarker of moderate alcohol consumption in healthy volunteers: a prospective randomized study. *Alcohol Alcohol* 2015: 399–406.
- Heier C, Xie H, Zimmermann R: Nonoxidative ethanol metabolism— from biomarkers to bioactive lipids. *Int Union Biochem Mol Biol* 2016; 68: 916–23.
- Kummer N, Ingels AS, Wille SM, et al.: Quantification of phosphatidylethanol 18:0/18:1, 18:1/18:1, 16:0/16:0 in venous blood and venous and capillary dried blood spots from patients in alcohol withdrawal and control volunteers. *Anal Bioanal Chem* 2016; 408: 825–38.
- Andresen-Streichert H, Beres Y, Weinmann W, et al.: Improved detection of alcohol consumption using the novel marker phosphatidylethanol in the transplant setting: results of a prospective study. *Transpl Int* 2017; 30: 611–20.
- Viel G, Boscolo-Berto R, Cecchetto G, Fais P, Nalesso A, Ferrara S: Phosphatidylethanol in blood as a marker of chronic alcohol use: a systematic review and meta-analysis. *Int J Mol Sci* 2012; 14: 788–812.
- Isaksson A, Walther L, Hansson T, Andersson A, Stenton J, Blomgren A: High-throughput LC-MS/MS method for determination of the alcohol biomarker phosphatidylethanol in clinical samples by use of a simple automated extraction procedure—preanalytical and analytical conditions. *J Appl Lab Med* 2017 (last accessed on 9 April 2018).
- Politi L, Morini L, Leone F, et al.: Ethyl glucuronide in hair: is it a reliable marker of chronic high levels of alcohol consumption? *Addiction* 2006; 101: 1408–12.
- Appenzeller B, Agirman R, Neuberger P, et al.: Segmental determination of ethyl glucuronide in hair: a pilot study. *Forensic Sci Int* 2007; 173: 87–92.
- Society of Hair Testing: Society of Hair Testing (SOHT). 2016 Consensus for the use of alcohol markers in hair for assessment of both abstinence and chronic excessive alcohol consumption. www.soht.org/images/pdf/Revision%202016_Alcoholmarkers.pdf (last accessed on 5 September 2017).
- Pragst F, Rothe M, Moench B, Hastedt M, Herre S, Simmert D: Combined use of fatty acid ethyl esters and ethyl glucuronide in hair for diagnosis of alcohol abuse: interpretation and advantages. *Forensic Sci Int* 2010; 196: 101–10.
- Süsse S, Selavka C, Mieczkowski T, Pragst F: Fatty acid ethyl ester concentrations in hair and self-reported alcohol consumption in 644 cases from different origin. *Forensic Sci Int* 2010; 196: 111–7.
- Pragst F, Balikova M: State of the art in hair analysis for detection of drug and alcohol abuse. *Clin Chim Acta* 2006; 370: 17–49.
- Gärer J, Appenzeller B, Walasek P, et al.: Impact of hair-care products on FAEE hair concentrations in substance abuse monitoring. *Anal Bioanal Chem* 2011; 400: 183–8.
- Süsse S, Pragst F, Mieczkowski T, et al.: Practical experiences in application of hair fatty acid ethyl esters and ethyl glucuronide for detection of chronic alcohol abuse in forensic cases. *Forensic Sci Int* 2012; 218: 82–91.
- Martins Ferreira L, Binz T, Yegles M: The influence of ethanol containing cosmetics on ethyl glucuronide concentration in hair. *Forensic Sci Int* 2012; 218: 123–5.
- Xie Y, Feng B, Gao Y, Wei L: Effect of abstinence from alcohol on survival of patients with alcoholic cirrhosis: a systematic review and meta-analysis. *Hepatol Res* 2014; 44: 436–49.
- Alvarez M, Cirera I, Solà R, Bargalló A, Morillas R, Planas R: Long-term clinical course of decompensated alcoholic cirrhosis: a prospective study of 165 patients. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45: 906–11.
- Armer J, Gunawardana L, Allcock R: The performance of alcohol markers including ethyl glucuronide and ethyl sulphate to detect alcohol use in clients in a community alcohol treatment programme. *Alcohol Alcohol* 2017; 52: 29–34.
- Concheiro M, Cruz A, Mon M, et al.: Ethylglucuronide determination in urine and hair from alcohol withdrawal patients. *J Anal Toxicol* 2009; 33: 155–61.

Anschrift für die Verfasser

PD Dr. rer. nat. Hilke Andresen-Streichert
Uniklinik Köln
Institut für Rechtsmedizin
Arbeitsbereich Toxikologie und Alkoholologie
Melatengürtel 60/62, 50823 Köln
Hilke.andresen-streichert@uk-koeln.de

Zitierweise

Andresen-Streichert H, Müller A, Glahn A, Skopp G, Sterneck M: Alcohol biomarkers in clinical and forensic contexts. *Dtsch Arztebl Int* 2018; 115: 309–15. DOI: 10.3238/arztebl.2018.0309

► The English version of this article is available online:
www.aerzteblatt-international.de

Zusatzmaterial

Mit „e“ gekennzeichnete Literatur:
www.aerzteblatt.de/lit1818 oder über QR-Code

eMethodenteil, eKasten, eTabelle:
www.aerzteblatt.de/18m0309 oder über QR-Code



Zusatzmaterial zu:

Alkoholmarker bei klinischen und forensischen Fragestellungen

Hilke Andresen-Streichert*, Alexander Müller*, Alexander Glahn, Gisela Skopp*, Martina Sterneck*

Dtsch Arztebl Int 2018; 115: 309–15. DOI: 10.3238/arztebl.2018.0309

eLiteratur

- e1. Helander A, Eriksson C: Laboratory tests for acute alcohol consumption: results of the WHO/ISBRA study on state and trait markers of alcohol use and dependence. *Alcohol Clin Exp Res* 2002; 26: 1070–7.
- e2. Heinemann A, Sterneck M, Kuhlencordt R, et al.: Carbohydrate-deficient transferrin: diagnostic efficiency among patients with end-stage liver disease before and after liver transplantation. *Alcohol Clin Exp Res* 1998; 1806–12.
- e3. Seitz H, Bühninger G, Mann K: Grenzwerte für den Konsum alkoholischer Getränke: Empfehlungen des wissenschaftlichen Kuratoriums der DHS. Deutsche Hauptstelle für Suchtfragen (ed.). In: Jahrbuch Sucht. Geesthacht: Neuland 2008; 205–9.
- e4. Helander A: Biological markers in alcoholism. *J Neural Transm Suppl* 2003; 66: 15–32.
- e5. Hock B, Schwarz M, Domke I, et al.: Validity of carbohydrate-deficient transferrin (%CDT), gamma-glutamyltransferase (gamma-GT) and mean corpuscular erythrocyte volume (MCV) as biomarkers for chronic alcohol abuse: a study in patients with alcohol dependence and liver disorders of non-alcoholic and alcoholic origin. *Addiction* 2005; 100: 1477–86.
- e6. Dahl H, Stephanson N, Beck O, Helander A: Comparison of urinary excretion characteristics of ethanol and ethyl glucuronide. *J Anal Toxicol* 2002; 26: 201–4.
- e7. Goll M, Schmitt G, Ganssmann B, Aderjan R: Excretion profiles of ethyl glucuronide in human urine after internal dilution. *J Anal Toxicol* 2002; 26: 262–6.
- e8. Reisfield G, Goldberger B, Crews B, et al.: Ethyl glucuronide, ethyl sulfate, and ethanol in urine after sustained exposure to an ethanol-based hand sanitizer. *J Anal Toxicol* 2011; 35: 85–91.
- e9. Reisfield G, Goldberger B, Pesce A, et al.: Ethyl glucuronide, ethyl sulfate, and ethanol in urine after intensive exposure to high ethanol content mouthwash. *J Anal Toxicol* 2011; 35: 264–8.
- e10. Thierauf A, Gnann H, Wohlfarth A, et al.: Urine tested positive for ethyl glucuronide and ethyl sulphate after the consumption of "non-alcoholic" beer. *Forensic Sci Int* 2010; 202: 82–5.
- e11. Gnann H, Engelmann C, Skopp G, et al.: Identification of 48 homologues of phosphatidylethanol in blood by LC-ESI-MS/MS. *Anal Bioanal Chem* 2010; 396: 2415–23.
- e12. AWMF, DGPPN, DGSUCHT: S3-Leitlinie: Screening, Diagnose und Behandlung alkoholbezogener Störungen. AWMF-Register Nr. 076–001. www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/076-001_S3-Leitlinie_Alkohol_2016-02.pdf (last accessed on 30 March 2018).
- e13. Dilling H, Mombour W, Schmidt M: Internationale Klassifikation psychischer Störungen. In: ICD-10 Kapitel V (F): Klinisch-diagnostische Leitlinien. Bern: Huber 2014.
- e14. Lee K, Pham A: Screening and behavioral counseling interventions in primary care to reduce alcohol misuse. *Am Fam Physician* 2014; 89: 971–2.
- e15. Stewart S, Koch D, Willner I, Anton R, Reuben A: Validation of blood phosphatidylethanol as an alcohol consumption biomarker in patients with chronic liver disease. *Alcohol Clin Exp Res* 2014; 38: 1706–11.
- e16. Helander A, Peter O, Zheng Y: Screening and identification. Monitoring of the alcohol biomarkers PEth, CDT, and EtG/EtS in an outpatient treatment setting. *Alcohol Alcohol* 2012; 47: 552–7.
- e17. Hahn J, Dobkin L, Mayanja B, et al.: Phosphatidylethanol (PEth) as a biomarker of alcohol consumption in HIV positives in sub-Saharan Africa. *Alcohol Clin Exp Res* 2012; 36: 854–62.
- e18. Baldwin A, Jones J, Jones M, Plate C, Lewis D: Retrospective assessment of prenatal alcohol exposure in dried blood spot cards: an objective method for determining the prevalence rates of alcohol consumption during pregnancy. *Int J Alcohol Drug Res* 2015; 4: 131–7.
- e19. Stewart S, Law T, Randall P, Newman R: Phosphatidyl and ethanol consumption in reproductive age woman. *Alcohol Clin Exp Res* 2010; 34: 488–92.
- e20. Marques P, Hansson T, Isaksson A, et al.: Detection of phosphatidylethanol (PEth) in the blood of drivers in an ignition interlock program. *Traffic Inj Prev* 2011; 12: 136–41.
- e21. Javors M, Hill-Kapturczak N, Roache J, Karns T, Dougherty D: Characterization of the pharmacokinetics of phosphatidylethanol 16:0/18:1 and 16:0/18:2 in human whole blood after alcohol consumption in a clinical lab study. *Alcohol Clin Exp Res* 2016; 40: 1228–34.
- e22. Schröck A, Thierauf-Emberger A, Schürch S, Weinmann W: Phosphatidylethanol (PEth) detected in blood for 3 to 12 days after single consumption of alcohol—a drinking study with 16 volunteers. *Int J Legal Med* 2017; 131: 153–60.
- e23. Gnann H, Weinmann W, Thierauf A: Formation of phosphatidylethanol and its subsequent elimination during an extensive drinking experiment. *Alcohol Clin Exp Res* 2012; 36: 1507–11.
- e24. Aderjan R, Daldrup T, Käferstein H, et al.: Richtlinien zur Bestimmung der Blutalkoholkonzentration (BAK) für forensische Zwecke. *Blutalkohol* 2011; 48: 137–43.
- e25. Bundesärztekammer: Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen. www.bundesaerztekammer.de/fileadmin/user_upload/downloads/Rili-BAEK-Laboratoriumsmedizin.pdf (last accessed on 29 September 2017).
- e26. Marti U, Joneli J, Caslavská J, Thormann W: Determination of carbohydrate-deficient transferrin in human serum by two capillary zone electrophoresis methods and a direct immunoassay: comparison of patient data. *J Sep Sci* 2008; 31: 3079–87.
- e27. Daves M, Cemin R, Floreani M, Puscaddu I, Cosio G, Lippi G: Comparative evaluation of capillary zone electrophoresis and HPLC in the determination of carbohydrate-deficient transferrin. *Clin Chem Lab Med* 2011; 49: 1677–80.
- e28. Dave M, Dherai A, Udani V, Hegde A, Desai N, Ashavaid T: Comparison of transferrin isoform analysis by capillary electrophoresis and HPLC for screening congenital disorders of glycosylation. *J Clin Lab Anal* 2018; 32: e22167.
- e29. Kenan N, Larsson A, Axelsson O, Helander A: Changes in transferrin glycosylation during pregnancy may lead to false-positive carbohydrate-deficient transferrin (CDT) results in testing for riskful alcohol consumption. *Clin Chim Acta* 2011; 412: 129–33.
- e30. Bergström J, Helander A: HPLC evaluation of clinical and pharmacological factors reported to cause false-positive carbohydrate-deficient transferrin (CDT) levels. *Clin Chim Acta* 2008; 389: 164–6.
- e31. Helander A, Dahl H: Urinary tract infection: a risk factor for false-negative urinary ethyl glucuronide but not ethyl sulfate in the detection of recent alcohol consumption. *Clin Chem* 2005; 51: 1728–30.
- e32. Arndt T, Beyreiß R, Schröfel S, Stemmerich K: Cross-reaction of propyl and butyl alcohol glucuronides with an ethyl glucuronide enzyme immunoassay. *Forensic Sci Int* 2014; 241: 84–6.
- e33. Arndt T, Grüner J, Schröfel S, Stemmerich K: False-positive ethyl glucuronide immunoassay screening caused by a propyl alcohol-based hand sanitizer. *Forensic Sci Int* 2012; 223: 359–63.
- e34. Arndt T, Gierten B, Güssregen B, Werle A, Grüner J: False-positive ethyl glucuronide immunoassay screening associated with chloral hydrate medication as confirmed by LC-MS/MS and self-medication. *Forensic Sci Int* 2009; 184: e27–9.
- e35. Helander A, Ullah S, Beck O: Phosphatidylethanol in breath: a possible noninvasive screening test for heavy alcohol consumption. *Clin Chem* 2015; 61: 991–3.
- e36. Stadler A: Untersuchungen zu Phosphatidylethanol im Vergleich zu anderen Alkoholkonsummarkern an verschiedenen Probenmaterialien bei Alkoholentzugspatienten. Dissertation: Universität Heidelberg 2012. www.ub.uni-heidelberg.de/archiv/15375 (last accessed 25 March 2018).
- e37. Bakhireva L, Shrestha S, Gurierrez H, Berry M, Schmitt C, Sarangam D: Stability of phosphatidylethanol in dry blood spot cards. *Alcohol Alcohol* 2016; 51: 275–80.
- e38. Yon C, Han J: Analysis of trimethylsilyl derivatization products of phosphatidylethanol by gas chromatograph-mass spectrometry. *Exp Mol Med* 2000; 32: 243–5.
- e39. Sonmez M, Cinar R, Gorgulu Y, Kilic E, Unal A: Evaluation of phosphatidylethanol by ELISA for detection of excessive alcohol use compared with traditional biomarkers: a case-control study. *Psychiatr Clin Psychopharmacol* 2017; 27: 41–6.
- e40. Janda I, Weinmann W, Kuehnle T, Lahode M, Alt A: Determination of ethyl glucuronide in human hair by SPE and LC-MS/MS. *Forensic Sci Int* 2002; 128: 59–65.
- e41. Morini L, Politi L, Groppi A, Stramesi C, Poletti A: Determination of ethyl glucuronide in hair samples by liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry. *J Mass Spectrom* 2006; 41: 34–42.
- e42. Albermann M, Madea B, Musshoff F: A SPME-GC/MS procedure for the determination of fatty acid ethyl esters in hair for confirmation of abstinence test results. *J Chromatogr Sci* 2014; 52: 955–60.
- e43. Pragst F, Auwaerter V, Sporkert F, Spiegel K: Analysis of fatty acid ethyl esters in hair as possible markers of chronically elevated alcohol consumption by head-space solid-phase microextraction (HS-SPME) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). *Forensic Sci Int* 2001; 121: 76–88.

eTABELLE

Übersicht über die Studienlage zu Phosphatidylethanol

Studienkollektiv/Anzahl	Zielsetzung/Methode	diagnostische Aussage	Bemerkung	Quellen
Studien zu PEth an ausgewählten Kollektiven				
Patienten mit chronischen Lebererkrankungen (n = 222)	Selbsteinschätzung, %CDT vs. PEth LC-MS/MS PEth 16:0/18:1 LOD: 8 ng/mL	Cut-off 80 ng/mL: Sensitivität 91 %, Spezifität 77 % bei ≥ 4 Drinks/Tag im vergangenen Monat	AUROC PEth: 0,90 AUROC %CDT: 0,79 ergänzend zur klinischen Beurteilung, Rückfall-Marker („relapse marker“)	(e15)
ambulante Alkoholentzugspatienten (n = 40), Beobachtungsdauer ca. 2 Jahre	Monitoring, PEth, 9 Homologe LC-MS/MS LOD, Cut-off: 0,1µM Cut-off %CDT: 1,7 %	Beginn: 70 % Peth+, 55 % CDT+ signifikanter Rückgang positiver Befunde mit der Zeit	PEth 16:0/18:1 ist so sensitiv wie Gesamt-PEth; Rückfallquote: PETH+ (43 %), CDT+ (38 %)	(e16)
HIV-Patienten (n = 77) Blutproben zu Beginn und nach 3 Wochen	Prüfung der Trinkangaben, AAK (täglich) LC-MS/MS PEth 16:0/18:1 PEth 16:0/16:0 PEth 18:1/18:1 LOD: 10 ng/mL	Gesamtkollektiv: Sensitivität: 88 % Spezifität: 88,5 % ≥ 3 Drinks/Woche: Sensitivität: 100 % Spezifität: 47,5 % (LOD)	AUROC PEth 16:0/18:1: 0,92 > AUROC PEth 16:0/16:0 und 18:1/18:1; unabhängig von Alter und BMI	(e17)
DBS Neugeborener (Analyse bis zu 12 Monate nach Probennahme) (n = 250)	Prävalenz, Machbarkeit LC-MS/MS, PEth 16:0/18:1 LOD: 8 ng/mL	4 % positiv (PEth ≥ 8 ng/mL) Hinweis auf Alkoholkonsum im letzten Schwangerschaftsmonat	Abnahme von PEth in DBS: ≤ 34,1% innerhalb von 12 Monaten	(e18)
Patienten vor (n = 51) und nach (n = 61) Lebertransplantation	Evaluation, Vergleich mit anderen Markern LC-MS/MS PEth 16:0/18:1	Sensitivität PEth: 100 % Sensitivität Ethanol, Methanol und ETG (Urin): 45–92 % letzter Alkoholkonsum ≤ 7 Tage	EtG im Haar erfasst länger zurückliegenden Alkoholkonsum	(25)
Frauen im reproduktionsfähigen Alter (n = 80)	Evaluation von PEth und Alkoholkonsum, LC-MS/MS PEth 16:0/18:1 bzw. 18:1/16:0 LOD: 20 ng/mL (Cut-off)	signifikanter Zusammenhang zwischen Alkoholmenge und PEth 93 % positiv bei ≥ 2 Drinks/Tag	AUROC 0,77 (> 1 Drink/Tag) AUROC 0,80 (> 2 Drinks/Tag)	(e19)
Krauffahrer im Interlock-Programm (n = 147)	Compliance, Vergleich mit anderen Markern LC/ELSD, LC-MS/MS LOD: 0,25 bzw. 0,005 µM	Zündblockade: LC-MS/MS: 88,5 % positiv, LC/ELSD: 71,2 % positiv LC-MS/MS auch bei keiner oder sehr geringer Blockadenanzahl positiv	Methodenvergleich (MS/MS vs. ELSD): r ² = 0,86 PEth 16:0/18:1 ≈ 45 % Gesamt-PEth	(e20)
ausgewählte prospektive bzw. experimentelle Studien zu PEth				
moderate Alkoholaufnahme (16 g Frauen, 32 g Männer) (n = 44), Studiendauer: 3 Monate, keine Kontrollgruppe	Markervergleich LC-MS/MS PEth 16:0/18:1 LOD 3,5 ng/mL Cut-off %CDT 0,86 %	PEth ist nach Alkoholaufnahme stets nachweisbar; Sensitivität: 100 % Spezifität: 78 %	AUROC PEth: 0,92 AUROC %CDT: 0,82 Die Kombination von PEth mit %CDT führt nicht zu einem Anstieg von AUROC.	(22)
Alkoholdosis: 0,25 bzw. 0,5 g/kg (n = 27), Blutentnahmen bis zu 14 Tage	Pharmakokinetik PEth 16:0/18:1 PEth 16:0/18:2 LC-MS/MS LOD: 5 ng/mL AAK	PEth bei allen Probanden nachweisbar, C _{max} : 90–120 min, HWZ: 1,0–13,1 Tage, Proben mit PEth 16:0/18:1 positiv, aber 16:0/18:2 negativ, und umgekehrt	AUC (kombiniert): Überlappung zwischen den Dosen, unterschiedliche Bildungs- und Abbauraten der Homologen, AAK kann nur 31 % der PEth-Variabilität erklären	(e21)
Alkoholdosis: 1 g/kg (n = 16), Blutentnahmen bis zu 14 Tage	Nachweisfenster nach einmaligem Konsum PEth 16:0/18:1 LC-MS/MS ETG (Urin)	C _{max} : 37–208 ng/mL (8 h) mittlere HWZ: 3 Tage Nachweisdauer: 3–12 Tage		(e22)
Alkoholdosis: 5 x 1 g/kg an 5 aufeinanderfolgenden Tagen (n = 11), Studiendauer: 16 Tage	Nachweisfenster nach mehrmaligem Konsum PEth 16:0/18:1 LC-MS/MS BAK	PEth C _{max} : 74–237 ng/mL (nach 3–6 Tagen) BAK _{max} : 0,99–1,83 ‰	niedrigere PEth-Konzentrationen im Vergleich zu Werten nach Alkoholmissbrauch	(e23)

AAK: Atemalkoholkonzentration; AUROC: „area under the receiver operating characteristic curve“; BAK: Blutalkoholkonzentration; BMI: Body-Mass-Index; CDT: kohlenhydratdefizientes Transferrin; CDT+: CDT-positive Fälle; C_{max}: maximale Konzentration; DBS: Trockenblutprobe („dried blood spots“); ETG: Ethylglukuronid; HIV, humanes Immundefizienz-Virus; HWZ: Halbwertszeit; LC/ELSD: Hochdruckflüssigkeitschromatographie gekoppelt mit einem Streulichtdetektor; LC-MS/MS: Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie gekoppelt mit Tandemmassenspektrometrie; LOD: „limit of detection“ (Nachweisgrenze); n, Anzahl der Probanden; PEth: Phosphatidylethanol; PETH+: positive PETH-Fälle Die Zahlenkombination hinter dem Analyt bezeichnet die PETH-Homologen (z. B. 16:0/18:1), die für die Auswertung verwendet wurden (*eMethodenteil*). Interlock-Programm: in ein Fahrzeug eingebautes Atemalkohol-Messgerät in Verbindung mit einer Wegfahrsperre einschließlich verkehrspsychologischer Betreuung der Fahrer

eKASTEN

Fallbeispiel 2

Ein 58-jähriger männlicher Patient stellte sich mit dekompensierter Leberzirrhose Child C und dialysepflichtiger Niereninsuffizienz bei hepatorenalem Syndrom in der Transplantationsambulanz im Januar 2016 vor. Anamnestisch war bekannt, dass der Mann 4–10 Flaschen Bier pro Tag seit seinem 15. Lebensjahr und noch bis vor einem Jahr konsumierte. Er gab an, aktuell nur 2 alkoholfreie Biere pro Tag zu trinken. Laborchemisch fanden sich nahezu normale Leberwerte (Gamma-GT 60 U/L, AST 47 U/L, ALT 18 U/L). Der Patient wurde dreimal in die Ambulanz einbestellt. Alkoholmarker wurden mit seiner Zustimmung bestimmt und fielen stets unauffällig aus: EtG im Urin < 0,5 mg/L, Ethanol 0 ‰, Methanol < 3mg/L (Cut-off 5 mg/L), CDT < 1 %. Im Haar konnte EtG nicht gemessen werden, da die Haare zu kurz waren.

Nach positiver transplantationspsychologischer Einschätzung wurde der Patient in die Warteliste aufgenommen. Im August 2016 fanden sich bei der ambulanten Kontrolle ein hochpositiver Urin-EtG-Wert mittels LC/MS-MS von 111 mg/L, während die Konzentration an Ethanol mit 0 ‰ sowie Methanol mit 1,6 mg/L normal und CDT nicht bestimmbar waren. Gleichzeitig stieg Gamma-GT leicht auf 112 U/L, AST auf 51 U/L und ALT auf 34 U/L an. Der Patient negierte jeglichen Alkoholkonsum. Es wurde eine Leberbiopsie durchgeführt, die aufgrund einer nur 5 %-igen fokalen makrovesikulären Steatosis und nur spärlichen Einzelzellnekrosen in der Zirrhose keinen Anhalt für einen floriden Alkoholkonsum zeigte. Auch die erneute psychologische Beurteilung des Patienten ergab keinen Hinweis auf eine fehlende Adhärenz. Somit beschloss die Transplantationskonferenz, das positive Urin-EtG Ergebnis als falsch-positiven Befund infolge des Konsums von alkoholfreiem Bier bei bestehender dialysepflichtiger Niereninsuffizienz und fehlender Validierung des Markers bei dieser Patientengruppe zu werten. Der Patient blieb daher auf der Warteliste, aber wurde aufgefordert, den Konsum von alkoholfreiem Bier einzustellen und sich für regelmäßige Verlaufskontrollen vorzustellen. Im Weiteren verbesserte sich die Nierenfunktion des Patienten, sodass im Oktober 2016 die Dialyse eingestellt werden konnte. Dennoch wurden bei einer GFR von 55 mL/min zweimalig wieder positive Urin-EtG-Werte bis zu einer hohen Konzentration von 39 mg/L gemessen. Parallel hierzu stiegen die Werte von Gamma-GT auf 303 U/L, AST auf 110 U/L und ALT auf 170 U/L an. Während Ethanol stets nicht nachweisbar war, lag auch jeweils eine erhöhte Konzentration an Methanol mit 6,3 und 5,1 mg/L vor. CDT blieb im Normbereich mit 0,6 ‰. Der Patient negierte weiterhin jeglichen Alkoholkonsum. Schließlich wurde er ohne Vorankündigung für den Folgetag in die Ambulanz einbestellt, wo sich jetzt ein deutlich erhöhtes Urin-EtG-Ergebnis von 169 mg/L fand. Zu diesem Zeitpunkt gab der Patient erstmals den Alkoholkonsum zu. Aufgrund fehlender Krankheitseinsicht und ungünstiger psychologische Einschätzung für eine zukünftige Abstinenz wurde der Patient zunächst von der Warteliste entfernt und in ein Suchtprogramm aufgenommen.

ALT: Alanin-Aminotransferase (Normwert < 50 U/L); AST: Aspartat-Aminotransferase (Normwert < 50 U/L); CDT: kohlenhydratdefizientes Transferrin (Cut-off 2,6 ‰); EtG: Ethylglukuronid (Cut-off 0,5 mg/L im Urin); Gamma-GT: Gammaglutamyltransferase (Normwert < 60 U/L); GFR: glomeruläre Filtrationsrate (Normwert > 90 mL/min); LC/MS-MS: Hochleistungsflüssigkeitschromatographie-Tandemmassenspektrometrie

eMETHODENTEIL

ANALYTIK DER ALKOHOLMARKER

Ethanol im Blut

Als Analysemethoden sind in klinisch-chemischen Labors vor allem enzymatische Tests im Einsatz. Für forensisch valide Ergebnisse ist jeweils eine Doppelbestimmung mit zwei unterschiedlichen Methoden vorgeschrieben (e24). Mindestens eine der Methoden muss eine gaschromatographische Analyse beinhalten (e24).

Die Bestimmung der Atemalkoholkonzentration ist weniger invasiv und liefert schneller ein orientierendes Ergebnis. Allerdings ist hier anzumerken, dass es sich bei Resultaten der klinisch eingesetzten Geräte um keine verlässlichen/gerichtsverwertbaren Ergebnisse handelt, da das Messprinzip fehleranfällig ist und gegebenenfalls sogar manipuliert werden kann.

Sollen aufgrund eines positiven Atemalkoholtests rechtliche Konsequenzen erfolgen, wie der Verlust des Arbeitsplatzes, die Versagung eines Therapieplatzes oder ähnliches, sei an dieser Stelle dringend darauf hingewiesen, dass im Sinne eines objektiven und gerichtsverwertbaren Resultats eine Blutprobe gemäß den forensischen Kriterien analysiert werden sollte. Für die enzymatische Bestimmung der Blutalkoholkonzentration sind im klinischen Kontext gemäß der Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen (Rili-BÄK) zulässige relative Abweichungen von 15 % bei Blutalkoholkonzentrationen bis 0,6 g/L und 9 % bei Konzentrationen über 0,6 g/L vorgegeben (e25). Gemäß der forensischen Richtlinie ist eine Abweichung von einem Soll-Wert bei Konzentrationen bis 1,0 g/kg maximal um $\pm 0,05$ g/kg, bei Konzentrationen darüber eine Abweichung von maximal ± 5 % zulässig (e24).

Methanol im Blut

Wie auch bei der chromatographischen Bestimmung von Ethanol wird Methanol im Blut mittels Headspace-Gaschromatographie (HS-GC) analysiert. Diese Methode hat den Vorteil, dass nach einer festgelegten Aufheiz- und Äquilibrationszeit nur die zu diesem Zeitpunkt im Gasraum („headspace“) oberhalb der Probe im Gefäß befindlichen leicht flüchtigen Komponenten in den Gaschromatographen injiziert werden. Hierdurch ergeben sich saubere Chromatogramme – endogen vorhandene Substanzen im Blut stören wenig. Als Detektor wird in der Regel ein Flammenionisationsdetektor (FID) verwendet (6, 8). Die Methode muss sensitiver sein als die zur Bestimmung von Ethanol im Blut, da bei Methanol Konzentrationen von mg/L statt g/L gemessen werden müssen. Deshalb sind für die Methanol-Analyse vor allem Kapillarsäulen geeignet. Die für die Ethanol-Analytik eingesetzten gepackten Chromatographiesäulen liefern eine unzureichende Auftrennung und Sensitivität.

Klinisch-Chemische Parameter

Gammaglutamyltransferase, Alanin- und

Aspartat-Aminotransferase, mittleres korpuskuläres Volumen

Um klinisch-chemische Parameter wie Gammaglutamyltransferase (Gamma-GT), Alanin-Aminotransferase (ALT) und Aspartat-Aminotransferase (AST) enzymatisch zu bestimmen, sind entsprechende Assays verschiedener Hersteller kommerziell erhältlich. Die Probe sollte in einem Heparin-Plasma-Röhrchen gewonnen werden.

Das mittlere korpuskuläre Volumen (MCV) der Erythrozyten wird beim „kleinen Blutbild“ mittels Durchflusszytometrie bestimmt. Bei der Blutabnahme muss ein EDTA-Röhrchen (Ethyldiamintetraessigsäure, EDTA) verwendet werden.

Die klinisch-chemischen Analysen müssen noch am selben Tag erfolgen, da sich andernfalls Artefakte bilden.

Kohlenhydratdefizientes Transferrin

Desialysierte Isoformen des Transferrins können anhand verschiedener Methoden bestimmt werden. Am gebräuchlichsten und kommerziell erhältlich sind die Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie (HPLC), die (Multi-)Kapillarelektrophorese sowie Methoden mit isoelektrischer Fokussierung und nephelometrische Immunoassays (e26–e28). Während Letztere vor allem als Hochdurchsatzverfahren zum schnellen Screening geeignet sind, handelt es sich bei den HPLC-Methoden um beweissichere Untersuchungen, die als sogenannte Bestätigungsanalyse positive Ergebnisse der Screeningverfahren verifizieren können (e29). Möglicherweise beruhen Angaben über eine Erhöhung der Werte von kohlenhydratdefizientem Transferrin (CDT), zum Beispiel infolge einer Diabetes-mellitus-Erkrankung Typ 2 oder der Einnahme von Antiepileptika, eher auf einer Interferenz mit weniger spezifischen Analysemethoden als auf tatsächlichen klinischen oder pharmakologischen Einflüssen. Genetische Varianten können mit HPLC-Methoden ebenfalls sicherer differenziert werden (e30). Die Probe wird in einem Serumröhrchen gewonnen und ist im Kühlschrank 24 h stabil. Muss die Probe länger gelagert werden, sollte zeitnah zentrifugiert und das Serum gefroren gelagert werden.

Ethylglukuronid und Ethylsulfat im Urin und Serum

Neben bislang lediglich für Ethylglukuronid (EtG) kommerziell verfügbaren immunchemischen Verfahren (EIA), die besonders zum Screening im klinischen Setting verbreitet eingesetzt werden, sind Kopplungen aus Flüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie (LC/MS) sowie Flüssigkeitschromatographie-Tandemmassenspektrometrie (LC-MS/MS) die in der Praxis vorherrschenden Untersuchungsmethoden. Letztere sind in der Lage, alle Erfordernisse an eine eindeutige Identifizierung und zuverlässige Quantifizierung zu erfüllen, und damit bei forensischen Fragestellungen anwendbar. Zusätzlich bieten sie die Möglichkeit, EtG und Ethylsulfat (EtS) in einem einzelnen Analysengang zu erfassen, wodurch ein positives Ergebnis abgesichert und auf Unregelmäßigkeiten aufmerksam gemacht werden kann: Beispielsweise wirkt sich eine Kontamination von Urinproben mit β -Glucuronidase, bedingt durch *Escherichia coli* bei einem Harnwegsinfekt oder durch beabsichtigte Probenverfälschung, lediglich auf die EtG-Konzentration im Urin aus, während die EtS-Konzentration nicht beeinflusst wird (e31). Urin- und Serumproben sollten möglichst zügig ins Labor gebracht und, wenn möglich, bis dahin im Kühlschrank gelagert werden.

Besonders zu beachten ist bei immunologischen Testverfahren, dass eine erhebliche Kreuzreaktivität gegenüber Glucuroniden anderer kurzketziger Alkohole (besonders 2-Propyl- β -D-Glucuronid, Kreuzreaktivität 69–84 % [e32]) besteht, so-

dass nach Anwendung von propyl- oder isopropylalkoholhaltigen Desinfektionsmitteln und auch nach deren passiver Inhalation falsch-positive Testergebnisse des Enzym-Immunoassays möglich sind (e33). Immunchemisch falsch-positive Ergebnisse wurden darüber hinaus auch nach einer Aufnahme von Chloralhydrat beobachtet (e34). Diese Reaktion basiert auf der Störung durch Trichlorethylglukuronid (e34). Deshalb sollte auch in der Klinik eine entsprechende chromatographische Methode zur Verifizierung der zunächst als nur hinweisgebend zu bewertenden immunchemischen Ergebnisse nachgeschaltet werden.

Analytik von Phosphatidylethanol

Für die Analyse von Phosphatidylethanol (PEth) wird neben Gewebehomogenaten, die überwiegend nur zu Studienzwecken verwendet wurden, vorrangig Vollblut eingesetzt. Kürzlich wurde PEth in der Atemluft, die nichtinvasiv gewinnbar ist, nachgewiesen (e35).

Vollblutproben sollen vorzugsweise in Röhrchen mit EDTA-, Heparin- oder, seltener verwendet, einem Fluorid-/Oxalat-Zusatz asserviert und nicht zentrifugiert werden. Die Blutproben können bei Raumtemperatur bis zu 24 Stunden, bei 4 °C bis zu 3 Wochen gelagert werden; danach ist eine Aufbewahrung bei -80 °C erforderlich. Alternativ können Trockenblutproben, sogenannte „dried blood spots“ (DBS), angefertigt werden (e36). DBS ergaben über sehr breite Konzentrationsbereiche konkordante Ergebnisse mit den entsprechenden Konzentrationen in nativen Blutproben (e36). PEth war in DBS bei 4 °C und -80 °C über einen Zeitraum von 9 Monaten stabil; bei Raumtemperatur zeigte sich eine mittlere Abnahme um 13,5 % nach dieser Zeitspanne (e37). Ein weiterer Vorteil der DBS ist, dass möglicherweise vorhandenes Ethanol in der Blutprobe verdunstet, sodass sich PEth nicht mehr nachträglich bildet.

PEth wird meist in einer mehrstufigen Extraktion aus Blutproben isoliert. Dabei wird 2-Propanol, anschließend n-Hexan oder auch n-Heptan nach Zugabe eines internen Standards verwendet. Für DBS wurde auch Methanol zur Extraktion eingesetzt (e18). Als interner Standard wurde zunächst Phosphatidylpropanol (1,2-Di-[octadecenoyl]-sn-glycero-3-phosphopropanol) oder -butanol (1,2-Dihexadecanoyl-sn-glycero-3-phosphobutanol) verwendet. Seit kurzem sind deuterierte Verbindungen (PEth-d5, PEth-d31) kommerziell erhältlich.

Die für erste Untersuchungen eingesetzte Dünnschichtchromatographie wurde bei unzureichender Empfindlichkeit zugunsten sensitiverer und spezifischerer chromatographischer Methoden nicht weiterverfolgt. Analysen mittels gaschromatographischer Trennung und massenspektrometrischer Detektion scheiterten an nicht reproduzierbaren Derivatisierungsreaktionen (e38). Ein jüngst entwickeltes „enzyme-linked immunosorbent assay“ (ELISA)-Testkit zeigte eine zu geringe diagnostische Genauigkeit, wobei Serum und kein Vollblut eingesetzt wurde (e39). Die nur sporadisch eingesetzte kapillarelektrophoretische Trennung mit Ultraviolett(UV)-Detektion und die sehr viel häufiger, erstmals 1998 angewandte hochdruckflüssigkeitschromatographische Trennung mit einem Lichtstreuungsdetektor („evaporative light scattering detector“, ELSD) werden heute praktisch nicht mehr genutzt. Beide Verfahren sind nicht nur unempfindlicher, sondern auch unspezifischer als die aktuell verwendeten LC-MS/MS-Methoden (28). UV-Detektoren

sind für die Lipidanalytik nur bedingt einsetzbar, weil sie lediglich Lipide mit konjugierten Doppelbindungen oder ungesättigten Fettsäureresten erfassen, während bei den ELSD die in der Messzelle niedergeschlagenen Lipidtröpfchen das einfallende Laserlicht streuen. Kontaminanten oder Matrixbestandteile können durch diese beiden Detektionsarten nicht sicher voneinander abgetrennt werden. Allerdings wurde bis vor kurzem in vielen Studien Gesamt-PEth mittels LC/ELSD routinemäßig ermittelt.

Anhand der LC-MS(MS)-Technologien lassen sich alle PEth-Homologen („PEth species“) mittels Elektrospray im negativen Ionisierungsmodus ionisieren und auch detektieren. Isobare Verbindungen können tandemmassenspektrometrisch voneinander getrennt werden. Gradientensysteme aus Wasser, Acetonitril, Methanol und 2-Propanol sowie unpolare Säulen (z. B. C4 bis C8) ermöglichen eine weitgehende Auftrennung des komplexen Lipidgemisches. Aufgrund einer begrenzten Anzahl kommerziell verfügbarer Standards für die quantitative Analyse der Einzelkomponenten wird vorzugsweise PEth 16:0/18:1 als häufigstes Homolog, neben PEth 16:0/18:2, 16:0/16:0 und 18:1/18:1 in selteneren Fällen, bestimmt (e36).

Die derzeitigen Studienergebnisse weisen darauf hin, dass ein alleiniger Nachweis des Homologen PEth 16:0/18:1 die Aussagekraft im Vergleich zu weiteren PEth-Homologen oder Gesamt-PEth nicht mindert. Allerdings konnte in einer Publikation eine höhere Identifikationsrate ermittelt werden, wenn PEth 16:0/18:2 zusätzlich zu PEth 16:0/18:1 bestimmt wurde (e21). Unterschiedliche Bildungs- und Eliminationsraten können hierfür ursächlich sein (e21). Beide Homologe wurden sowohl bei alkoholkranken als auch moderat trinkenden Personen nachgewiesen, während PEth 18:0/18:1 im zuletzt genannten Kollektiv nicht bestimmt werden konnte (26).

Analytik von Ethylglukuronid im Haar

Ethylglukuronid (EtG) im Haar wird in einem mehrstufigen Arbeitsgang analysiert. Zunächst wird die dem Patienten entnommene Haarprobe auf das Segment von 0–3 cm zugeschnitten. Voraussetzung dafür ist, dass das kopfhautnahe Ende der Haarprobe zweifelsfrei erkannt wird, das heißt bei der Entnahme markiert wurde. Es erfolgt eine in der Regel mehrstufige Dekontaminierung der Haarprobe, um äußerliche Anhaftungen zu entfernen und den Lipidfilm der Haare zu lösen. Zur Homogenisierung und Desintegration des Haarmaterials wird dieses entweder mittels Scheren fein (circa 1 mm) geschnitten oder mittels Kugelmühle pulverisiert. Für die Untersuchung wird üblicherweise ein Aliquot von 50 mg Haarmaterial verwendet.

Die eigentliche Extraktion des EtG erfolgt wegen der hohen Polarität der Substanz im Anschluss mittels eines polaren Extraktionsmittels, meist Wasser. Dabei werden Ultraschall und/oder höhere Temperaturen zu Hilfe genommen. Da eine Bestimmungsgrenze im niedrigen pg pro mg-Bereich erreicht werden muss, werden Massenspektrometrie-gekoppelte Untersuchungstechniken (in der Regel LC/MS/MS oder GC/MS/MS) verwendet (e40, 41). Als interner Standard dient d5-Ethylglukuronid (e40, e41). Kommerzielle Kontrollmaterialien sowie verschiedene Ringversuche (Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie [GTFCh] oder Society of Hair Testing [SoHT]) stehen für die Validierung und Qualitätskontrolle der Haaranalytik zur Verfügung.

Fettsäureethylester im Haar

Um Fettsäureethylester (FAEE) im Haar zu bestimmen, werden die Proben zunächst wie zur Untersuchung auf EtG vorbereitet und dekontaminiert. Allerdings ist darauf zu achten, dass der Waschprozess mit geeigneten nichtpolaren Lösungsmitteln erfolgt.

Die Analyse eines 3 cm oder 6 cm langen proximalen Haarstranges ist empfohlen (31). Werden längere oder auch kürzere Haarabschnitte untersucht, können die entsprechenden Cut-offs zur Interpretation nicht angewendet werden.

Die Fettsäureester Ethylmyristat, Ethylpalmitat, Ethyloleat und Ethylstearat werden zunächst aus dem geschnittenen oder pulverisierten Haar extrahiert und der Extrakt nach dem Einengen mittels Headspace Festphasenmikroextraktion („headspace solid-phase microextraction“) (HS-SPME) in Kombination mit Gaschromatographie/Massenspektrometrie (GC/MS) gemessen. Als interne Standards werden die korrespondierenden deuterierten Ethylester eingesetzt (e42, e43).