

Ethylglucuronid als Marker eines kürzlichen Alkoholkonsums - Kann Kapillarblut die Urinprobe ersetzen?

Olivia Rönitz¹, Norbert Dahmen², Michael Böttcher¹

¹MVZ Labor Dessau GmbH, Dessau

²Fachklinik Katzenelnbogen, Katzenelnbogen

Einleitung

Ethylglucuronid (EtG) hat sich als Marker eines kürzlichen Alkoholkonsums in der Abstinenzüberwachung in diversen klinischen Settings und u.a. bei der Fahreignungsdiagnostik etabliert. Der Nachweis von EtG erfolgt zumeist aus Urinproben mit einer „Dosis“- und Cutoff-abhängigen Nachweiszeit von bis zu 120 Stunden. Mit Urin als Probenmaterial sind jedoch diverse präanalytische Nachteile verbunden:

1. Um die Authentizität der Probe zu gewährleisten, muss die Urinprobe unter Aufsicht gewonnen werden.
2. Die EtG Konzentrationen sind durch Diurese beeinflusst.
3. Glucuronidasen aus Bakterien (Harnwegsinfekte, bakterielle Kontamination bei der Probennahme) führen zu falsch negativen Ergebnissen.
4. Die bakterielle („post-collection“) Synthese von EtG in Urinproben ist beschrieben.

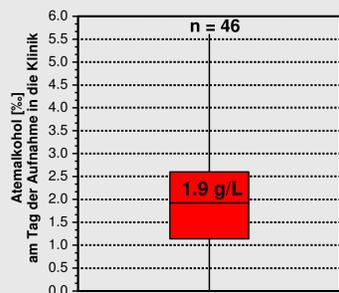
Diese Nachteile sind bei der Analyse von Blut nicht vorhanden. Jedoch galten die für vergleichbare Nachweisfenster zu erfassenden geringen EtG-Konzentrationen bislang als nicht messbar. Für die Bestimmung von EtG im Vollblut wurde eine ultrasensitive UPLC-MS/MS Methode entwickelt. Ziel ist die Etablierung von Kapillarblut als „wenig-invasive“ Alternative zur Urinprobennahme unter Aufsicht.

Methode

Die Urinproben wurden mit unserer forensisch akkreditierten UPLC-MS/MS Routinemethode bei einem Cutoff von 100 ng/mL gemessen. EDTA-Vollblut (10 µL) wurde mit 50µL deuteriertem internem Standard in Methanol (Konzentration in der Probe: 1 ng/mL EtG-d₃) versetzt. Nach Fällung und Zentrifugation wurde der Überstand im Stickstoffstrom bei 45°C eingedampft und der Rückstand anschließend in 50 µL 0.1% Ameisensäure aufgenommen. Nach Ausfrieren bei -80°C und erneuter Zentrifugation wurden 5 µL des Überstandes in das UPLC-MS/MS System (Waters Acquity UPLC verbunden mit Waters Xevo-TQ-S) injiziert. Die chromatographische Trennung erfolgte mit Gradientenelution (2-100% Methanol mit 0.1% Ameisensäure) innerhalb von 4.5 min auf einer Waters 2.1 x 150 mm, 1.8µm, HSST3 Säule bei 40°C. Der Detektor wurde im ESI-negativ und SRM Modus betrieben und jeweils drei Übergänge für EtG und den deuterierten internen Standard aufgezeichnet.

Patienten

An der Studie nahmen 46 randomisiert ausgewählte Patienten (34 M, 12 W) teil, die zur Alkoholvergiftung in die Klinik für Psychiatrie der Universitätsklinik Mainz aufgenommen waren. Atemalkohol wurde ab dem Aufnahmetag (Tag 0; Median 1.9 g/L Ethanol) bis zu Tag 7 täglich gemessen. Eine EDTA-Blutprobe wurde alle 24 h von Tag 1 (0.17 - 47.8 h) nach Aufnahme bis Tag 5 und an Tag 7 gewonnen. Jeweils parallel wurde an Tag 1 - 7 eine Urinprobe gewonnen. Ein positives Votum der Ethikkommission der Landesärztekammer Rheinland Pfalz für diese Studie lag vor.



Ergebnisse

Nachweisbarkeit von EtG in gepaarten Urin / Vollblutproben

Abb. 1a Korrelation der EtG-Konzentrationen von Vollblut und Urin an Tag 1 bis Tag 7

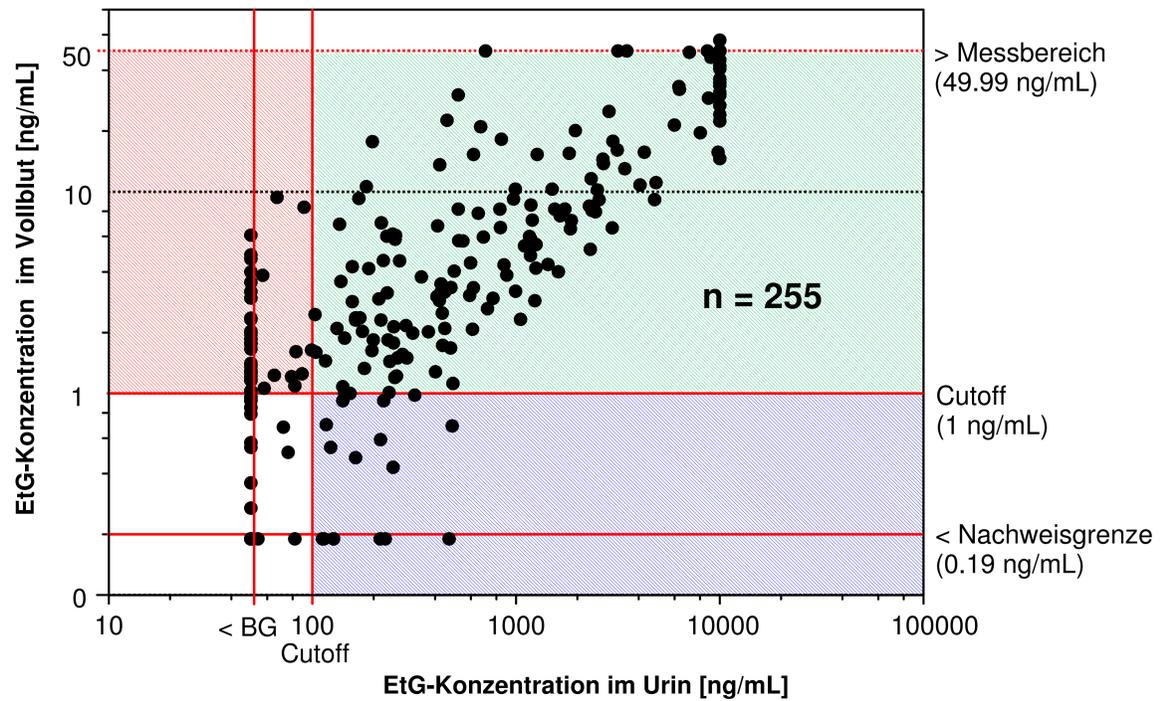
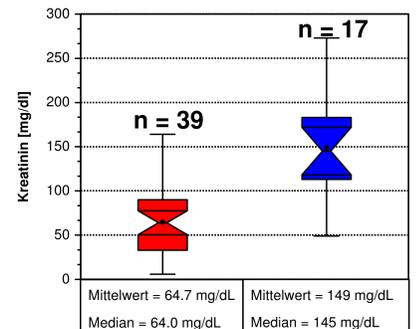


Abb. 1b Qualitative Auswertung

		EtG / Urin >100ng/mL	
		+	-
EtG / Vollblut >1ng/mL	+	156	39
	-	17	43

Abb. 1c Einfluss der Diurese



Kapillarblutentnahmesystem



1. Lanzette
2. 20 µL Kapillare, EDTA beschichtet, mit Pipettierhilfe
3. Probengefäß



Abb. 2a Elimination von EtG im Urin

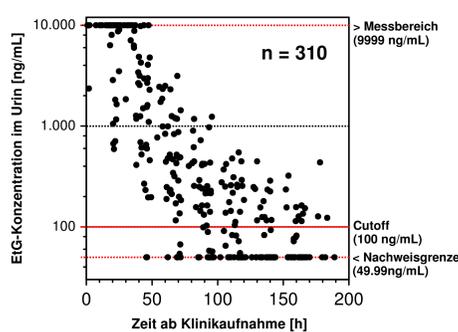


Abb. 2b Nachweiszeit im Urin - Cutoff 100 ng/mL

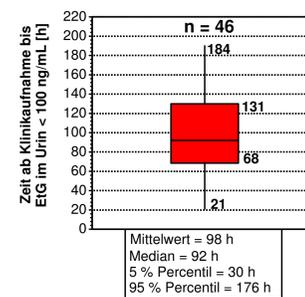


Abb. 2c Urin: Zeitfenster und Dosis

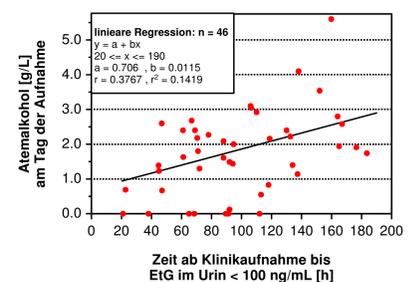


Abb. 3a Elimination von EtG im Vollblut

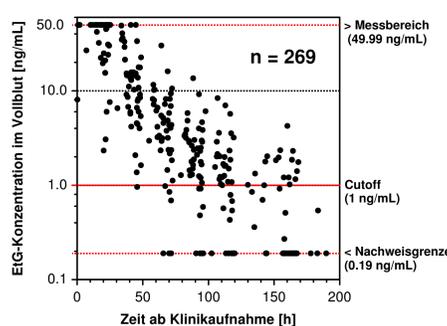


Abb. 3b Nachweiszeit im Vollblut - Cutoff 1 ng/mL

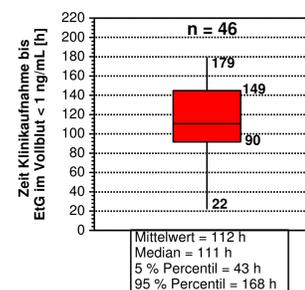
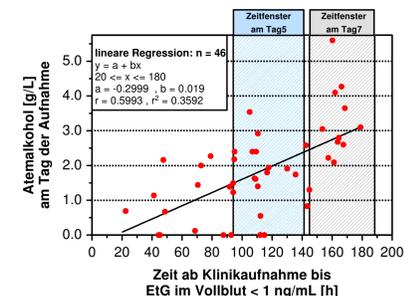


Abb. 3c Vollblut: Zeitfenster und Dosis



Zusammenfassung

- Abb. 1a-c: Bei den gewählten Entscheidungsgrenzen (Vollblut Cutoff 1ng/mL, Urin Cutoff 100 ng/mL) waren die Positivraten für EtG im Vollblut im Vergleich zu Urin leicht höher, was überwiegend durch verstärkte Diurese erklärbar ist.
- Abb. 2+3: Die Nachweiszeiten von EtG im Urin (Median: 92 h, 5%- 95%: 30 h - 176 h) und VB (Median: 111 h, 5% - 95%: 43 h - 168 h) waren vergleichbar
- Abb. 2c+3c: Die Korrelation zwischen Nachweiszeit und Alkoholdosis (initiale Atemalkoholkonzentration) von EtG ist im VB besser als im Urin
- **Vollblut stellt eine mögliche Alternative zu Urin beim EtG-Nachweis dar und könnte daher zukünftig auch als Kapillarblut gewonnen werden.**