



Schweizerische
Gesellschaft
für Rechtsmedizin
SGRM
Société Suisse
de Médecine Légale
SSML
Società Svizzera
di Medicina Legale
SSML

Arbeitsgruppe Haaranalytik

Bestimmung von Ethylglucuronid (EtG) in Haarproben

Version 2014

Vom Vorstand der SGRM genehmigt und zur Publikation freigegeben am 01.09.2014



Inhaltsverzeichnis

1	VORWORT	3
2	DEFINITIONEN / GLOSSAR	4
3	GRUNDLAGEN	5
3.1	Allgemeines	5
3.2	Anwendungen für die EtG-Haaranalytik	5
3.2.1	Allgemein.....	5
3.2.2	Haaranalytik für verkehrsmedizinische Begutachtungen.....	5
4	PRAKTISCHES VORGEHEN	6
4.1	Probenahme	6
4.2	Präanalytik	6
4.2.1	Waschen.....	6
4.2.2	Segmentierung.....	6
4.3	Methoden	6
4.3.1	Probenvorbereitung.....	6
4.3.2	Extraktion.....	6
4.3.3	Detektion.....	6
5	ANFORDERUNGEN AN DIE ANALYTIK	7
5.1	Validierung	7
5.2	Kalibrierung	7
5.3	Qualitätskontrolle	7
5.3.1	Interne Qualitätskontrolle.....	7
5.3.2	Interlaborvergleich.....	7
5.3.3	Internationale Qualitätskontrolle.....	7
5.3.4	Messunsicherheit.....	7
6	INTERPRETATION	8
6.1	Einteilung des Alkoholkonsums in Risikokategorien	8
6.2	EtG-Konzentrationen gemessen in Kopfharen	8
6.3	Erklärung zu Nachweis und Entscheidungsgrenzen	8
6.4	Angabe der Resultate	9
6.5	Weitere Faktoren für die Interpretation	9
6.5.1	Haarkosmetik.....	9
6.5.2	Auswachsphänomen.....	9
6.5.3	Sekundärhaare.....	9
7	REFERENZEN	10

1 VORWORT

Dieses Dokument wurde von den Mitgliedern der Arbeitsgruppe „Haaranalytik“ der SGRM (Schweizerischen Gesellschaft für Rechtsmedizin) erarbeitet. Die Arbeitsgruppe setzt sich aus Mitgliedern der Sektion Forensische Chemie und Toxikologie sowie der Sektion Verkehrsmedizin der SGRM zusammen. Es handelt sich um ein Konsenspapier und dient der Harmonisierung der Terminologie und der Interpretation von Haaranalysebefunden innerhalb der SGRM. Gleichzeitig definiert es Minimalanforderungen und stellt damit die Grundlage für das Qualitätsmanagement in der forensischen Haaranalytik dar.

Mitglieder der Arbeitsgruppe:

med. pract. Ph. Keller, IRM Aargau

Dr. rer. nat. W. Martz, IRM Aargau

Dr. phil. II F. Dussy, IRM Basel

Prof. Dr. rer. nat. W. Weinmann, IRM Bern

Dr. phil. nat. S. König, IRM Bern

Dr. rer. nat. F. Sporkert, CURML Lausanne

Dr. Sc. For. M.-T. Pinorini, FASV Olivone

Dr. rer. nat. J. Beyer, IRM St. Gallen

Dr. rer. nat. A. Cronin, IRM St. Gallen

Dr. phil. II M.R. Baumgartner, IRM Zürich

Dr. rer. nat. T.M. Binz, IRM Zürich

Dr. rer. nat. C. Klemm, IRM Zürich

Dr. med. B. Liniger, IRM Zürich

Apothekerin M.M. Madry, IRM Zürich

In diesem Dokument gilt für Personen die geschlechtsneutrale Formulierung; zum besseren Verständnis wird zumeist die männliche Form angewandt.

2 DEFINITIONEN / GLOSSAR

Arbeitsbereich	Konzentrationsbereich des Analyten in der Probe (untere/obere Grenze), mit einem akzeptablen Mass an Präzision und Richtigkeit. Muss im Validierungsbericht erwähnt sein.
Cut-off	<i>Engl.</i> Entscheidungsgrenze
D₅-EtG	fünffach-deutertes EtG
EI	<i>Engl.</i> Electron impact Ionization: Ionisationsverfahren in der MS
ESI	<i>Engl.</i> Electrospray Ionization: Ionisationsverfahren in der MS
EtG	Ethylglucuronid
FAEE	<i>Engl.</i> Fatty Acid Ethyl Ester = Fettsäureethylester
GC	Gaschromatographie = chromatographisches Verfahren zur Auftrennung von Stoffgemischen (anwendbar für gasförmige oder unzersetzt verdampfbare Substanzen)
GTFCh	Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie (http://www.gtfch.org/cms/)
ILV	Interlaborvergleich der SGRM
LC	<i>Engl.</i> Liquid Chromatography (Flüssigchromatographie) = chromatographisches Verfahren zur Auftrennung von Stoffgemischen (anwendbar auch für nicht flüchtige Substanzen)
LOD	<i>Engl.</i> Limit Of Detection = Nachweisgrenze = Grenze des verlässlichen, qualitativen Nachweises einer Substanz
MS	Massenspektrometrie = Verfahren zum Messen des Masse-zu-Ladungsverhältnisses von Ionen (einsetzbar zur qualitativen und quantitativen Bestimmung von Substanzen)
NCI	Negative Chemische Ionisation = Ionisationsverfahren der MS
pg/mg	Pikogramm pro Milligramm
proximal	kopfnah
SGRM	Schweizerische Gesellschaft für Rechtsmedizin (www.sgrm.ch)
SoHT	<i>Engl.</i> Society of Hair Testing (www.soht.org)
SPE	<i>Engl.</i> Solid Phase Extraction = Festphasenextraktion
WHO	<i>Engl.</i> World Health Organization (Weltgesundheitsorganisation)

3 GRUNDLAGEN

3.1 Allgemeines

Ethylglucuronid (EtG) und Fettsäureethylester (FAEE) sind direkte Marker für einen Alkoholkonsum. Beide Marker können in den Haaren nachgewiesen und für die Interpretation des Konsums von Trinkalkohol unabhängig angewendet werden, wobei EtG als der aussagekräftigere Marker angesehen werden darf, da er auf äussere Störungen weniger anfällig ist.

EtG ist ein nicht oxidatives Stoffwechselprodukt (Phase-II-Metabolit) des Trinkalkohols (Ethanol). EtG ist eine polare, wasserlösliche Verbindung. Ausser Ethanol ist bis heute keine andere Substanz bekannt, nach deren Aufnahme im Körper EtG gebildet wird. Aus diesem Grund dient der Nachweis von EtG im Haar als direkter Marker für Alkoholkonsum.

Die in den Haaren festgestellte EtG-Konzentration korreliert mit der aufgenommenen Menge an Trinkalkohol. Die in die Haare eingelagerte EtG-Menge ist unabhängig von der natürlichen Haarfarbe, d.h. weisse und pigmentierte Haare bauen EtG in gleicher Masse ein. Hingegen kann durch kosmetische Behandlung ein erheblicher Teil des eingelagerten EtGs zerstört oder herausgelöst werden.

3.2 Anwendungen für die EtG-Haaranalytik

3.2.1 Allgemein

Die Bestimmung von EtG im Haar erfolgt mit dem Ziel, Aussagen zu folgenden Fragestellungen zu erhalten:

- Überprüfung einer Alkoholabstinenz
- Überprüfung einer Alkoholabstinenz nach vorangegangenem Konsum bzw. Missbrauch
- Differenzierung zwischen einem moderaten und einem übermässigen Alkoholkonsum

3.2.2 Haaranalytik für verkehrsmedizinische Begutachtungen

Nach Entzug des Führerausweises aufgrund eines verkehrsrelevanten Alkoholmissbrauchs oder einer Alkoholabhängigkeit muss die betroffene Person zur Wiedererlangung des Führerausweises nachweisen, dass sie über den Zeitraum von in der Regel mindestens 6 Monaten (bei verkehrsrelevantem Alkoholmissbrauch) resp. 12 Monaten (bei einer Alkoholabhängigkeit) eine Alkoholabstinenz eingehalten hat¹⁾. In diesem Zusammenhang hat das Schweizerische Bundesgericht einen Entscheid bekräftigt, der sich auf die Untersuchung von Haaren für die Beurteilung einer Alkoholabstinenz stützt. Dabei wurde das Alkoholabbauprodukt EtG als geeigneter Marker anerkannt (Bundesgerichtsentscheid 6A.8/2007 vom 1. Mai 2007).

In der Fahreignungsbegutachtung liefert die EtG-Konzentration im Haar einen wesentlichen Befund. Grundsätzlich ist jedoch festzustellen, dass die Haaranalyse eine ergänzende Untersuchung darstellt, welche immer im Gesamtkontext aller für die Fahreignungsbegutachtung relevanten Aspekte und Befunde zu bewerten ist.

4 PRAKTISCHES VORGEHEN

4.1 Probenahme

Die Besonderheiten bei der Sicherstellung von Haarproben für forensisch-toxikologische Analysen sind im Dokument "Die forensisch-toxikologische Haaranalytik" der Arbeitsgruppe Haaranalytik der SGRM festgehalten.

4.2 Präanalytik

4.2.1 Waschen

Als Waschprozedur wird empfohlen, das Haarsegment mit Wasser und anschliessend mit organischem Lösemittel während wenigen Minuten kräftig zu schütteln bzw. zu schwenken.

4.2.2 Segmentierung

In der Regel sollten proximale Haarsegmente von höchstens 6 cm Länge untersucht werden^{2,3}, empfehlenswert sind kopfnahе Segmente von 3 – 5 cm Länge. Wird innerhalb des zu untersuchenden Zeitraumes, der durch die Haarlänge vorgegeben ist, eine relevante Veränderung der konsumierten Alkoholmengen geltend gemacht, wird eine Segmentierung entsprechend den Angaben des Probanden unter Verwendung der mittleren Wachstumsgeschwindigkeit für Haare empfohlen^{4,5}.

4.3 Methoden

4.3.1 Probenvorbereitung

Die Haarproben müssen zerkleinert und homogenisiert werden. Für eine standardisierte und optimierte Extraktion wird die Pulverisierung der Haarprobe empfohlen.

4.3.2 Extraktion

Zur Extraktion des Ethylglucuronids aus der homogenisierten Haarprobe wird Wasser empfohlen. Dabei sollte die Probe entweder permanent geschüttelt bzw. geschwenkt werden oder einer mehrstündigen Inkubation bei höherer Temperatur (z.B. 50°C) oder einer mindestens einstündigen Ultraschallbehandlung unterzogen werden. Je nach Analysenmethode kann eine anschliessende Derivatisierung oder Reinigung mittels SPE notwendig sein.

4.3.3 Detektion

Für den Nachweis von EtG in Haaren eignen sich verschiedene massenspektrometrische Methoden (GC-MS-NCI, GC-MS/MS-NCI, LC-MS/MS). Bislang steht für den Nachweis von EtG in Haaren kein immunochemisches Verfahren mit ausreichend hoher Empfindlichkeit zur Verfügung.

5 ANFORDERUNGEN AN DIE ANALYTIK

5.1 Validierung

Das analytische Verfahren muss gemäss geltenden Richtlinien validiert sein.

5.2 Kalibrierung

Wir empfehlen die Kalibration mit aufgestockten Blindhaarproben unter Bezug auf den internen Standard (D₅-EtG). Es sollte eine Konzentration von ≤ 5 pg/mg als unterster Kalibrationspunkt erreicht werden.

5.3 Qualitätskontrolle

5.3.1 Interne Qualitätskontrolle

Die regelmässig eingesetzte interne Qualitätskontrolle und die Dokumentation der Ergebnisse bilden das Fundament der Vertrauenswürdigkeit der Analysenresultate. Es wird empfohlen in einer Messreihe mindestens eine Negativ- und eine Positivkontrolle mitzuführen. Die Messwerte für die Positivkontrolle sollten in einer Regelkarte dokumentiert werden. Für die Positivkontrolle sind reale Haarproben einzusetzen. Nach unserer bisherigen Erfahrung ist EtG im Haar bei Ausschluss von störenden Umwelteinflüssen stabil.

5.3.2 Interlaborvergleich

Die Labore der Schweizer Institute für Rechtsmedizin verpflichten sich einmal jährlich an einem ILV der SGRM teilzunehmen. Mit der Organisation wird jedes Jahr ein anderes Labor beauftragt.

5.3.3 Internationale Qualitätskontrolle

Es muss jährlich an mindestens einer Qualitätskontrolle (Ringversuch) auf internationaler Ebene teilgenommen werden. Geeignete Ringversuche werden derzeit von der SoHT und der GTFCh angeboten.

5.3.4 Messunsicherheit

Derzeit liegt die harmonisierte Messunsicherheit für die Bestimmung von EtG im Arbeitsbereich bei $\pm 25\%$. Dieser Wert wurde auf der Basis von Ergebnissen aus EtG-Proficiency Tests ermittelt.

6 INTERPRETATION

6.1 Einteilung des Alkoholkonsums in Risikokategorien

Gemäss der WHO kann auf Grundlage des durchschnittlichen Alkoholkonsums pro Tag eine Einteilung in die Risikostufen „Low“, „Medium“ und „High“ für alkoholbedingte Langzeitschäden vorgenommen werden⁶⁾. Gemäss dieser internationalen Definition liegt der Grenzwert zum „High Risk Drinking“ bei 60 g Alkohol pro Tag.

Die Einteilung in Risikokategorien dient als Referenzwert und ermöglicht einen Vergleich des Konsumverhaltens zwischen verschiedenen Ländern. Bei der Einteilung in Risikokategorien ist zu beachten, dass das Risiko nicht für alle Individuen gleich ist, sondern als Durchschnittsrisiko für eine Bevölkerung anzusehen ist. Es soll auch nicht impliziert werden, dass „Low Risk“ - Trinken risikofrei wäre, zumal letztlich nicht nur die Trinkmenge zur Beurteilung des Risikos von Bedeutung ist.

6.2 EtG-Konzentrationen gemessen in Kopfharen

Für die Interpretation der EtG-Konzentrationen gemessen in Kopfharen werden im Wesentlichen drei Kategorien verwendet: 1) Abstinenz; 2) moderater Konsum (im Sinne der WHO die Risikostufen „Low“ und „Medium“); 3) Übermässiger Konsum (im Sinne der WHO die Risikostufe „High“).

Die Interpretation der Messwerte bezieht sich auf die Consenspapiere der SOHT^{2,3)}. Demnach spricht ein Messwert oberhalb der unteren Entscheidungsgrenze von 7 pg/mg EtG (gemessen in proximalen Kopfharsegmenten von 3 bis 6 cm Länge) für einen relevanten, moderaten Alkoholkonsum. Liegt der EtG-Messwert unterhalb dieser unteren Entscheidungsgrenze, so bestehen nach heutigem Wissensstand keine Hinweise für einen regelmässigen relevanten Alkoholkonsum. Kann kein EtG nachgewiesen werden, so steht das Resultat nicht im Widerspruch zu einer geltend gemachten Abstinenz. EtG-Werte (gemessen in proximalen Kopfharsegmenten von 3 bis 6 cm Länge) über der oberen Entscheidungsgrenze von 30 pg/mg sprechen für übermässigen Alkoholkonsum.

Bereich	Interpretation
EtG < LOD	Ethylglucuronid nicht nachgewiesen: Das Resultat steht nicht im Widerspruch zu einer Abstinenz.
LOD ≤ EtG < 7 pg/mg	Ethylglucuronid nachgewiesen: Das Resultat liefert keinen Hinweis für einen regelmässigen relevanten Alkoholkonsum.
7 pg/mg ≤ EtG < 30 pg/mg	Ethylglucuronid nachgewiesen: Der Wert spricht für einen moderaten Alkoholkonsum.
EtG ≥ 30 pg/mg	Ethylglucuronid nachgewiesen: Der Wert spricht für einen übermässigen Alkoholkonsum.

6.3 Erklärung zu Nachweis und Entscheidungsgrenzen

Die Nachweisgrenze (*Engl.* LOD) ist abhängig vom Analysenverfahren und kann zwischen den verschiedenen Laboratorien variieren. Ausserdem ist aufgrund andauernder Optimierung eine weitere Anpassung der Nachweisgrenze möglich.

Demgegenüber stellen die untere und obere Entscheidungsgrenze (*Engl.* Cut-off) Grenzwerte dar, die sowohl basierend auf analytischen als auch interpretatorischen Überlegungen festgelegt werden können. Entscheidungsgrenzen können auch künftig aufgrund von Studien oder Methodenoptimierungen (Verbesserung der Sensitivität) angepasst werden.

6.4 Angabe der Resultate

Messwerte ≥ 7 pg/mg sind mit 2 signifikanten Stellen anzugeben. Messwerte oberhalb einer Konzentration von 100 pg/mg werden als „> 100 pg/mg“ angegeben. Im Prüfbericht ist darauf hinzuweisen, dass die Messwerte mit einer Messungenauigkeit behaftet sind bzw. einen Vertrauensbereich aufweisen.

6.5 Weitere Faktoren für die Interpretation

6.5.1 Haarkosmetik

Grundsätzlich ist zu beachten, dass der EtG-Gehalt im Haar nicht stabil gegenüber Umwelteinflüssen ist und insbesondere durch kosmetische Behandlungen und/oder sehr intensives Haarewaschen vermindert werden kann.

6.5.2 Auswachsphänomen

Das Auswachsphänomen wurde bei Abbruch eines Substanzkonsums mehrfach beschrieben. Es beschreibt den Effekt, dass die betreffende Substanz auch nach Abstinenzbeginn noch für einige Zeit im Haar nachgewiesen werden kann. Der Grund für diese kontinuierliche Abnahme der EtG-Werte über wenige Wochen liegt im Wachstumszyklus der Haare. Wird eine Haarprobe sichergestellt, enthält diese immer auch einen Anteil an telogenen Haaren. Nach unserer Erfahrung kann das Auswachsphänomen bei Abstinenz nach länger dauerndem, mittelstarken bis übermässigen Alkoholkonsum auftreten. In solchen Fällen kann im Fall einer Segmentierung eine signifikante Abnahme der EtG-Konzentration im proximalen Segment im Vergleich zum distalen Segment um mindestens den Faktor 3 (meist 5 – 15, abhängig von Segmentlänge) beobachtet werden. Kann EtG nicht nachgewiesen werden ($\text{EtG} < \text{LOD}$), darf in einem proximalen Haarsegment von 5 cm Länge auf Grund des Auswachsphänomens auf eine Abstinenz während der letzten 6 Monate geschlossen werden.

6.5.3 Sekundärhaare

Grundsätzlich sind Kopfhare für die Haaranalytik zu bevorzugen. Sollte kein Kopfhare zu Verfügung stehen, wird empfohlen auf Arm-, Bein-, Bart- oder Brustbehaarung auszuweichen. Ein negativer Befund in Schamhaaren ist vereinbar mit einer Abstinenz, ansonsten sind Schamhaare für die Beurteilung des Alkoholkonsums nicht geeignet. Achselhaare sind nach bisherigen Erkenntnissen nicht geeignet⁸⁾. Eine Bestimmung der Haarlänge ist bei Sekundärhaaren schwierig. Es kann in erster Näherung von den längsten Haaren ausgegangen werden. Für die Interpretation der Ergebnisse der Sekundärhaare können die gleichen Entscheidungsgrenzen wie für Kopfhare herangezogen werden^{7,8,9)}. Für eine Abschätzung des korrespondierenden Zeitfensters ist der deutlich höhere Prozentsatz an telogenen Haaren und die unterschiedliche Wachstumskinetik zu berücksichtigen⁴⁾.

7 REFERENZEN

- 1) „Handbuch der verkehrsmedizinischen Begutachtung“ Huber Verlag; 1. Auflage; 2005 (ISBN 978-3-456-84113-7)
- 2) Use of Alcohol Markers in Hair for Abstinence Assessment 2012 (www.soht.org)
- 3) Consensus of the Society of Hair Testing on hair testing for chronic excessive alcohol consumption 2011 (www.soht.org)
- 4) Pragst F. & Balikova MA., Clin Chim Acta. 2006 Aug;370(1-2):17-49. Epub 2006 Mar 6.
- 5) LeBeau MA et al., Forensic Sci Int. 2011 Jul 15;210(1-3):110-6. Epub 2011 Mar 6.
- 6) International Guide For Monitoring Alcohol Consumption And Related Harm, WHO/MSD/MSB/00.4, ab Seite 51
- 7) Kerekes I. et. al., Alcohol Alcohol. 2009 Jan-Feb;44(1):62-6. Epub 2008 Nov 28.
- 8) Pirro V. et. al, Forensic Sci Int. 2011 Jul 15;210(1-3):271-7. Epub 2011 Apr 20.
- 9) Pianta A. et al, Alcohol and Alcoholism, 48, 3, 295–302, 2013