

Aus dem CharitéCentrum für diagnostische und präventive Labormedizin
Institut für Rechtsmedizin
Direktor: Prof. Dr. med. Michael Tsokos

Habilitationsschrift

**Nachweis von direkten Alkoholkonsummarkern im Haar, Sebum und Mekonium
zur Abstinenzkontrolle und zur Detektion eines Alkoholmissbrauches**

zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach Rechtsmedizin

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

**Dr. med. Sven Hartwig
aus Berlin**

Eingereicht: Dezember 2015

Dekan: Prof. Dr. med. A. R. Pries

1. Gutachter: Prof. Dr. med. A. Büttner / Rostock

2. Gutachter: Prof. Dr. med. M. A. Verhoff / Frankfurt a. M.

Inhaltsverzeichnis	2
Abkürzungsverzeichnis	5
1 Einleitung	6
1.1 Alkohol: medizinische und gesellschaftliche Herausforderungen	6
1.2 Nachweis chronischen Alkoholmissbrauches	9
1.3 Nachweis von Alkoholabstinenz	11
1.4. Alkoholkonsummarker	12
1.4.1 Fettsäureethylester (FSEE)	13
1.4.2 Ethylglucuronid (EtG)	14
1.5 Fragestellungen	16
1.6 Methodik	17
2. Eigene Arbeiten	
2.1 Nachweis von chronischem Alkoholmissbrauch – Eignung von FSEE im Sebum	18
2.2 Der Kombinierte Einsatz von FSEE und EtG in der Arbeitsplatzüberwachung	27
2.3 FSEE im Mekonium als Marker für mütterlichen Alkoholkonsum in der Schwangerschaft.	35
2.4 FSEE als Alkoholmarker in Haaren: Untersuchungen zur Grenzwertfindung	46
2.5 Vergleich der direkten Alkoholmarker FSEE und EtG mit konventionellen Alkoholmarkern	58
3. Diskussion und Ausblick	66

4. Zusammenfassung	76
5. Literaturangaben	79
5.1 Eigene Publikationen zur kumulativen Habilitationsschrift	79
5.2 Literatur	80
Danksagungen	93
Erklärung	94

Für meine Kinder Pauline, Nils und Liv

Ich danke allen, die mich bei dieser Arbeit aktiv und ideell unterstützt haben.

Abkürzungsverzeichnis

ALT	Alaninaminotransferase
AST	Aspartataminotransferase
AUC	Area under the curve
BAK	Blutalkoholkonzentration
BASt	Bundesanstalt für Straßenwesen
CDT	Carbohydrate deficient transferrin (Desialotransferrin)
C_{FS}	Summenwert der Konzentrationen der Fettsäureethylester
DGVM	Deutsche Gesellschaft für Verkehrsmedizin
ESA	Epidemiologischer Suchtsurvey
EtG	Ethylglucuronid
EtOH	Ethanol
EtS	Ethylsulfat
EWDTs	European Workplace Drug Testing Society
FAE	Fetale Alkoholeffekte
FAEE	Fatty acid ethyl esters
FAS	Fetales Alkoholsyndrom
FASD	Fetal Alcohol Spectrum Disorder
FSEE	Fettsäureethylester
GC/MS	Gaschromatographie-Massenspektrometrie
GGT	Gamma-Glutamyltransferase
GTFCh	Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie
LC/MS/MS	Flüssigchromatographie-Tandemmassenspektrometrie
MetOH	Methanol
mg	Milligramm
MCV	Mean corpuscular volume (Mittleres Erythrozyteneinzelvolumen)
ng	Nanogramm
PEth	Phosphatidylethanol
pg	Pikogramm
ROC	Receiver Operating Characteristic
SoHT	Society of Hair Testing
SPME	Solid phase micro extraction (Festphasenmicroextraktion)
TPG	Transplantationsgesetz

1. Einleitung

1.1 Alkohol: medizinische und gesellschaftliche Herausforderungen

In Deutschland gelten gemäß den Ergebnissen des epidemiologischen Suchtsurveys 2012 (ESA) etwa 1,77 Millionen Menschen im Alter von 18 bis 64 Jahren als alkoholabhängig; bei 1,61 Millionen Menschen liegt ein Alkoholmissbrauch vor. 9,5 Millionen Menschen betreiben riskanten Alkoholkonsum. 74.000 Sterbefälle stehen in Deutschland jährlich im Zusammenhang mit Alkoholmissbrauch [1].

Ende der 1990er Jahre lag in Deutschland der mittlere tägliche Pro-Kopf-Verbrauch an reinem Alkohol bei etwa 23 g [2]. Das entspricht etwa 210 Litern Bier oder 100 Litern Wein pro Jahr. 2010 lag der Pro-Kopf-Verbrauch bei 9,6 Litern gegenüber 11,1 Litern 1995. Der durchschnittliche Verbrauch ist demnach gering gesunken [3].

Die gesundheitlichen und gesellschaftlichen Folgen des Alkoholmissbrauchs kosten Schätzungen zufolge, die sich auf das Jahr 2007 beziehen, 27 Milliarden Euro jährlich und übertreffen die vergleichbaren Folgen des Konsums von Betäubungsmitteln [3].

Die weite Verbreitung und Verfügbarkeit des Alkohols und die gesellschaftliche Akzeptanz des Alkoholkonsums führen auch zu forensisch relevanten Folgen und damit assoziierten Fragestellungen und damit zu einer intensiven Beschäftigung mit dem Thema in der medizinischen, toxikologischen und forensischen Praxis und Forschung.

Der Anteil der unter Alkoholeinfluss verübten Straftaten – insbesondere Gewalttaten – ist ungebrochen hoch [4], die Suizidgefährdung bei Alkoholikern um ein Vielfaches höher als bei nicht Suchterkrankten [5] und der Anteil der Getöteten im Straßenverkehr infolge einer Alkoholisierung mindestens eines Unfallbeteiligten überproportional hoch: im Jahr 2013 starb jeder elfte getötete Verkehrsteilnehmer infolge eines Alkoholunfalles [6].

Ein weiteres, zu wenig beachtetes Problem stellt der Alkoholmissbrauch in der Schwangerschaft dar, der insbesondere im ersten Trimenon zu teils schweren

alkoholbedingten Schäden beim Kind [7] führen kann. Aktuell werden in Deutschland jährlich 10000 Fälle von fetalen Alkoholeffekten (FAE) erfasst, bei etwa 4000 dieser Fälle wird ein Fetales Alkoholsyndrom (FAS) diagnostiziert. Von einer hohen Dunkelziffer ist auszugehen [3, 7, 8].

Der laborchemische Nachweis einer aktuellen Alkoholisierung ist in der forensischen und klinischen Praxis heute standardisiert. Die forensische Alkoholkonzentrationsbestimmung ist streng und detailliert in Richtlinien [9, 10] geregelt. Die Anforderungen an die räumlichen und apparativen Voraussetzungen und die fachliche Qualifikation der Untersucher sind hoch, eine Akkreditierung nach DIN EN ISO IEC 17025 für forensische Zwecke ist heute obligat.

Die Feststellung der aktuellen Blutalkoholkonzentration (BAK) kann Grundlage für Rückrechnungen zum juristisch bedeutsamen Zeitpunkt (Tatzeitpunkt/Unfallzeitpunkt) sein [11]. Die Rückrechnungsmöglichkeiten sind dabei auf wenige Stunden begrenzt.

Die objektive Betrachtung einer zurückliegenden Alkoholaufnahme oder des grundsätzlichen Alkoholkonsumverhaltens in den vergangenen Tagen, Wochen oder Monaten ist dagegen schwierig. Hieraus ergeben sich vielschichtige Frage- und Problemstellungen in der medizinischen und forensischen Praxis.

Die Rechtsmedizin hat die Anwendung medizinischer Kenntnisse und Methoden zur Klärung rechtserheblicher Tatbestände zum Inhalt [12].

Die gesetzesgemäße Interpretation medizinischer Sachverhalte obliegt dem über fundierte Rechtskenntnisse verfügenden rechtsmedizinischen Sachverständigen, der Erkenntnisse und Methoden anderer medizinischer Fachgebiete nutzt [13].

Neben diesen modernen Beschreibungen als der Rechtssicherheit dienende medizinische Fachdisziplin ist das Spektrum der in diesem Fachgebiet bearbeiteten Problemfelder nicht nur auf medizinische Aspekte beschränkt, sondern umfasst nahezu alle Naturwissenschaften. Dies wird in der von dem Arzt Adolph Henke, der als Begründer der deutschsprachigen Gerichtsmedizin gilt, bereits zu Beginn des 19. Jahrhunderts abgefassten Definition deutlich: „Die gerichtliche Medicin, gerichtliche Arzneykunde (*Medicina forensis*) lehrt nämlich die Anwendung von Grundsätzen der

Naturwissenschaft und Medizin zur Aufklärung und Entscheidung zweifelhafter Rechtsfragen.“[14]

Das Aufgaben- und Leistungsspektrum der Rechtsmedizin ist groß und umfasst neben der namensgebenden medizinischen Fachdisziplin auch Anwendungen von Erkenntnissen und Methoden naturwissenschaftlicher Fachgebiete. Eine herausragende Rolle spielt dabei neben der seit Ende der 1980er Jahre entwickelten forensischen Genetik die forensische Toxikologie als Nachfolgerin der gerichtlichen Chemie.

Der Berliner Arzt und Toxikologe Louis Lewin betonte die Notwendigkeit einer tiefen Auseinandersetzung mit der Toxikologie bereits 1896: „Dieser wachsenden Bedeutung der Toxikologie entspricht auch eine so bedeutende Zunahme der darauf bezüglichen empirischen und experimentellen Tatsachen, dass derjenige, der sich nicht eingehender mit dieser Disziplin befasst, nur einen unvollkommenen Überblick über das Vorhandene gewinnen kann“.[15]

Verwandte Themen – insbesondere Fragen der Fahreignungsdiagnostik und einer Beeinflussung der Fahrsicherheit - sind auch Gegenstand der Verkehrsmedizin, die sich vordergründig wissenschaftlich mit der Frage der Verkehrssicherheit beschäftigt und durch Anwendung medizinischer Erkenntnisse und Erfahrungen die Sicherheit des Menschen im Verkehr fördert und damit präventiv wirkt [16].

Kenntnisse der forensischen Toxikologie sind für den Rechtsmediziner essenziell.

Die oft retrospektive Beurteilung der Handlungs-, Einsichts- und Steuerungsfähigkeit unter dem Einfluss alkoholischer Getränke zählt zu den klassischen Aufgaben der Rechtsmedizin in foro. Die tiefe Kenntnis über die Alkoholaufnahme, Resorption, Verteilung und den Alkoholabbau und dessen Ausscheidung ermöglicht in der ständigen Rechtsprechung auch retrospektive Aussagen über die Blutalkoholkonzentration und ggf. davon abgeleitet auch zu erwarteten psychophysischen Effekten [11].

Im Zusammenhang mit Verkehrsdelikten und Ordnungswidrigkeiten im Straßenverkehr, bei der Arbeitsplatzüberwachung in Berufsgruppen mit hoher

Verantwortung für Menschenleben und hochwertige Güter sowie in strafrechtlichen und zivilrechtlichen Verfahren ist oftmals nicht eine konkrete Alkoholisierung zu einem definierten Zeitpunkt von Interesse, sondern die Frage nach dem grundsätzlichen Konsumverhalten in Bezug auf Alkohol über einen längeren Zeitraum [16].

Die dahingehend von den Probanden getroffenen Eigenauskünfte über den Alkoholkonsum sind ggf. gezielt falsch oder durch gesellschaftliche Normen beeinflusst. Tendenziell werden bei Fragen zum eigenen Alkoholkonsum zu niedrige Angaben gemacht.

Die Entwicklung valider Verfahren zur objektiven Beurteilung des aktuellen, langfristigen oder zurückliegenden Alkoholkonsums und Alkoholkonsumverhaltens ist deshalb fester Bestandteil rechtsmedizinischer und forensisch-toxikologischer Forschung. Dabei sind die Anwendungsmöglichkeiten bereits forensisch etablierter Alkoholkonsummarker auch im klinischen Kontext gegeben.

Die vorliegenden Arbeiten sollen einen grundlegenden Beitrag zum Verständnis und zur breiten Verwendung forensisch bedeutsamer Alkoholkonsummarker auch außerhalb der Rechtspflege leisten.

1.2 Nachweis chronischen Alkoholmissbrauches

Traditionell erfolgt der Nachweis eines Alkoholmissbrauches durch ärztliche Anamnese, körperliche Untersuchung und Laboruntersuchungen, die im Wesentlichen – abgesehen von der akuten Alkoholisierung - auf organischen Folgen und veränderten Enzymaktivitäten beim Alkoholmissbrauches beruhen. Die hierfür gebräuchlichen, preisgünstigen Laborparameter MCV, AST, ALT und GGT zeigen pathologische Werte oft erst bei entsprechenden Organschäden oder Modifikationen der Stoffwechselprozesse in der Leber und sind für Trinkalkohol als Auslöser unspezifisch. Sie werden daher als indirekte Alkoholmarker bezeichnet. Problematisch ist der Nachweis eines Alkoholmissbrauches dann, wenn die Schäden irreversibel und die genannten Laborparameter als Ausdruck veränderter Enzymaktivitäten auch bei Alkoholabstinenz anhaltend pathologisch sind. Vor diese Probleme ist neben der Verkehrsmedizin insbesondere die Transplantationsmedizin gestellt.

Der Wert der Alkoholanamnese allein ist umstritten, weil die gemachten Trinkangaben nicht überprüfbar sind.

Der seit vielen Jahren etablierte indirekte Alkoholmarker mit der höchsten Spezifität ist das CDT, welches jedoch aufgrund seiner Preisintensität in der Routinediagnostik - zu Unrecht - eine untergeordnete Rolle zu spielen scheint. Auch mag die Gewöhnung der Anwender an die vertrauten Laborparameter eine Rolle spielen. Ein Phänomen, welches auch aus der Abstammungsbegutachtung gut bekannt ist. Hier sind es die blutgruppenserologischen Untersuchungen, die – obwohl in der Aussage deutlich ungenauer - den bereits etablierten molekulargenetischen Verfahren seitens der Auftraggeber lange noch vorgezogen wurden.

In der forensischen Toxikologie werden seit Ende der 1990er Jahre direkte Alkoholkonsummarker erforscht, die gegenüber den genannten indirekten Alkoholmarkern, eine höhere Spezifität besitzen und je nach untersuchter Matrix auch eine retrospektive Langzeitaussage erlauben. Zudem sind Sie auch an postmortal gewonnenem Material bestimmbar, was für die gebräuchlichen Blutparameter nicht zutrifft. Die Untersuchungen fokussierten in den vergangenen Jahren auf die Eignung des Ethylglucuronids (EtG) und der Fettsäureethylester (FSEE). Es gibt inzwischen langjährige praktische Erfahrungen mit dem Nachweis dieser Alkoholkonsummarker in verschiedenen biologischen Matrices [18–39].

Als besonders geeignet hat sich - ähnlich wie beim Betäubungsmittelkonsumnachweis - die Haaranalytik erwiesen – insbesondere wegen der Möglichkeit retrospektive Langzeitaussagen treffen zu können. Diese Potenz wurde schnell erkannt und alsbald literarisch gefestigt in einem an Wilhelm Busch angelehnten Reim: „Ob einer stets betrunken war, erkennt man am Ethyl im Haar“ (F. Pragst 2003).

International sind sowohl FSEE, als auch EtG inzwischen gebräuchlich, wobei sich rasch eine Bevorzugung des EtG in Deutschland abzeichnete. Die Anwendungen sind überwiegend im Bereich der Rechtspflege angesiedelt. Klinische Anwendungen in der Suchtmedizin, der Transplantationsmedizin, Neonatologie und Pädiatrie befinden sich in der Erprobung.

Die Bestimmung des Ethylglucuronidgehaltes und der Fettsäureethylesterkonzentration in Haaren und der Ethylglucuronidkonzentration im

Urin sind inzwischen in der Fahreignungsdiagnostik als Verfahren zur Abstinenzkontrolle anerkannt und zwischen den beteiligten Stellen und Behörden konsentiert [16, 40, 41].

1.3 Nachweis von Alkoholabstinenz

Die Form und Validität des Nachweises einer Alkoholabstinenz richtet sich nach den damit verknüpften Rechtsfolgen. Strengste Maßstäbe gelten dabei derzeit in der Fahreignungsdiagnostik.

Weitere Anwendungen Alkoholabstinenz belegender Verfahren finden sich in der Arbeitsplatzüberwachung und vor sozialrechtlichem Hintergrund beispielsweise bei Sorgerechtsstreitigkeiten.

Medizinisch spielt der Abstinenznachweis eine Rolle bei geplanten Lebertransplantationen infolge ethyltoxischer Leberparenchymschäden, in der Neonatologie bei fraglichem Alkoholmissbrauch der Mutter während der Schwangerschaft und bei Alkoholentzugsprogrammen.

Abstinenzbeweisende Verfahren existieren bislang nicht. Der Nachweis kann nur indirekt über das Fehlen von Hinweisen auf einen ggf. missbräuchlichen oder exzessiven Alkoholkonsum erfolgen.

Alle biologischen Marker, die der Detektion eines Alkoholmissbrauches dienen können, unterliegen dabei natürlichen Schwankungen. Hiervon sind auch die in den vorliegenden kumulativ zusammengefassten Arbeiten untersuchten direkten Alkoholkonsummarker betroffen.

Als Mindestanforderung an einen für forensische Zwecke einsetzbaren Biomarker zum Beleg einer Alkoholabstinenz müssen eine hohe Sensitivität bei gleichzeitig hoher Spezifität und die Möglichkeit verschiedene Konsumgruppen zu unterscheiden, gegeben sein.

1.4 Alkoholkonsummarker

Alkoholkonsummarker lassen sich in Trait-Marker, State-Marker und Assoziationsmarker unterteilen. Trait-Marker kennzeichnen eine erhöhte Anfälligkeit für Alkoholismus. State-Marker lassen einen bereits manifesten Alkoholmissbrauch erkennbar werden. Unter Assoziationsmarkern werden serogenetische Merkmale zusammengefasst, die bei Alkoholikern häufiger auftreten als bei Nicht-Alkoholikern [42, 43]. Eine Übersicht über gebräuchliche State-Marker findet sich in Tab. 1.

State-Marker

Alkohol (EtOH)
Methanol (MetOH)
Mittleres Erythrozyteneinzelvolumen (MCV)
Gamma-Glutamyltransferase (GGT)
Carbohydrate deficient transferrin (CDT)
Alaninaminotransferase (ALT)
Aspartataminotransferase (AST)
Fettsäureethylester (FSEE)
Ethylglucuronid (EtG)
Phosphatidylethanol (PEth)
Ethylsufat (EtS)

Tabelle 1: Übersicht über State-Marker [nach 43]

Die in den vorliegenden Arbeiten untersuchten Fettsäureethylester (FSEE) und das Ethylglucuronid (EtG) sind neben dem Alkohol selbst der Gruppe der direkten Alkoholmarker zugehörig. Die klinisch gebräuchlichen Laborparameter zur Einschätzung des Alkoholkonsumverhaltens CDT, GGT, ALT, AST und MCV werden dagegen als indirekte Alkoholmarker bezeichnet, da die veränderten Enzymaktivitäten nicht alkoholspezifisch sind.

Im Folgenden werden die häufig verwendeten neueren, forensisch bedeutsamen direkten Alkoholkonsummarker näher charakterisiert.

1.4.1 Fettsäureethylester

1981 wurden FSEE (Ethylstearat, Ethylpalmitat, Ethyloleat, Ethyllinoleat und Ethylarachidonat) als nichtoxidative Nebenprodukte des Ethanolstoffwechsels nachgewiesen [44].

Ein für die Bildung der FSEE (exemplarisch in Abb. 1 dargestellt) verantwortliches Enzym, die Fettsäureethylester-Synthase wurde in den Organen, die am häufigsten bei Alkoholmissbrauch geschädigt werden, in erhöhter Konzentration gefunden [45]. Es wird daher angenommen, dass FSEE mitverantwortlich für Organschäden bei Alkoholikern sind [42, 47-51].

Die Eignung der FSEE als Alkoholkonsummarker für forensische Zwecke wurde in den vergangenen mehr als 20 Jahren intensiv untersucht [17-20, 22-23, 36-37, 52-54].

Von Pragst et al. wurde 2000 erstmals der analytische Nachweis von FSEE in Haaren beschrieben [19]. Es folgten Arbeiten zur (forensischen) Anwendungsmöglichkeit der FSEE in Haaren als retrospektive Marker für exzessiven Alkoholkonsum [20-23].

FSEE zeichnen sich durch hohe Lipophilie aus und lassen sich eindeutig und mit ausreichender Empfindlichkeit massenspektrometrisch in unterschiedlichen Matrices (z.B. in Blut und Haaren) detektieren.

In früheren Arbeiten wurden der Weg und beeinflussende Faktoren der Fettsäureethylestereinlagerung und –speicherung im Haar untersucht [20–22, 55–56]. Die Einlagerung erfolgt kontinuierlich über den Haartalg (Sebum) über die gesamte Haarlänge, während es in der Peripherie zu Auswascheffekten kommt [55].

Abbildung 2 zeigt exemplarisch die typische Verteilung der vier favorisierten FSEE bei der segmentweisen Untersuchung einer Haarprobe.

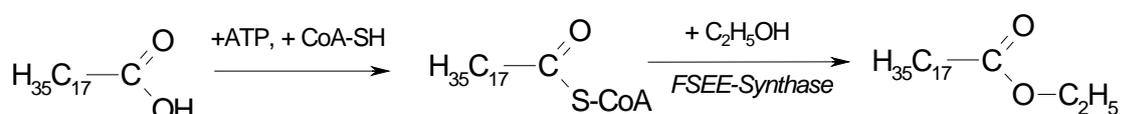


Abb. 1: Bildung von FSEE am Beispiel von Ethylstearat [aus 55]

Inzwischen wurde die segmentweise Analyse der Haarproben verlassen und die Untersuchung der Kopfnahen 3 bzw. 6 cm in der Society of Hair Testing (SoHT) konsentiert [57-58]. Hierfür wurde ein Summengrenzwert (C_{FSEE}) der vier untersuchten Ester (Myristat, Palmitat, Oleat und Stearat) von 0,5 ng/mg Haar bei Untersuchung einer Haarlänge von 3 cm festgelegt, ab dem von chronisch-exzessivem Alkoholmissbrauch ausgegangen wird.

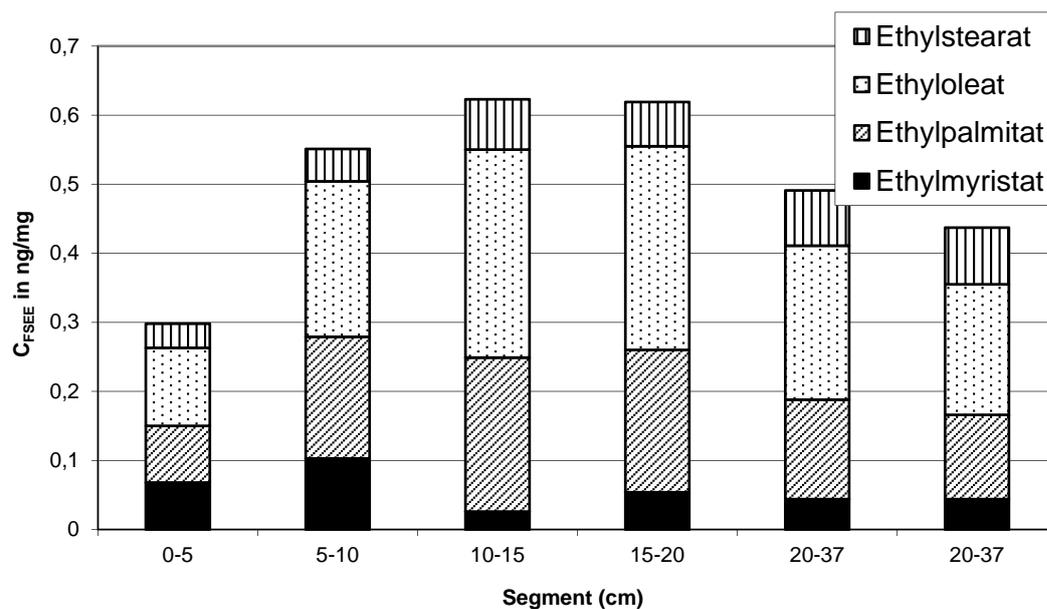


Abbildung 2: Verteilung der FSEE über die Haarlänge bei segmentweiser Untersuchung. [aus 55]

1.4.2 Ethylglucuronid

EtG ist ein weiteres Nebenprodukt des nichtoxidativen Ethanolstoffwechsels. Sein Nachweis wurde bereits 1952 von Kamil et al. [60] beschrieben. Seine Struktur ist in Abbildung 3 dargestellt. Wie bei der Bildung der FSEE spielt dieser Weg des Ethanolstoffwechsels nur für 0,1 % des resorbierten, abzubauenen Ethanols eine Rolle [61]. Die Detektion in unterschiedlichen biologischen Matrices für forensische Zwecke wurde von mehreren Autoren bereits Anfang der 1990er Jahre beschrieben [24-26, 52, 62].

Wurst, Seidl et. al. zeigten [27-29], dass EtG wegen der längeren Halbwertszeit gegenüber Ethanol auch dann noch als Marker für eine Alkoholaufnahme geeignet ist, wenn Ethanol selbst abgebaut und ausgeschieden ist. Das eröffnete die Möglichkeit zur Urinanalyse zur Abstinenzkontrolle mit einem dosisabhängigen Nachweisfenster von bis zu drei Tagen [40].

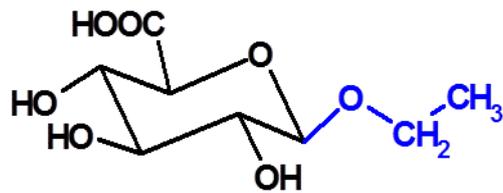


Abb. 3: Struktur von EtG

EtG ist ein hydrophiles Molekül. Daher wird es im Gegensatz zu den FSEE nur in geringer Menge in das Haar eingelagert. Der im Konsensus der SoHT vorgeschlagene Grenzwert zur Detektion von chronisch exzessivem Alkoholkonsum liegt bei 30 pg/mg Haar im proximalen, kopfnahen Haarabschnitt von 0-3 cm [57, 58, 78].

Es lagen nur wenige Studien zur Grenzwertfindung an größeren Kollektiven vor [35–39].

EtG wird zum Erbringen eines Alkoholabstinenzbeleges in der Fahreignungsdiagnostik eingesetzt [16, 40, 41]. EtG-Konzentrationen ab 7 pg/mg Haar gelten als dringender Hinweis auf vermehrten Alkoholkonsum. Nach den Vorgaben der Bundesanstalt für Straßenwesen (BASt) werden Konzentrationen unterhalb dieses Grenzwertes als Beleg zur Untermauerung einer Abstinenzbehauptung anerkannt [41].

Neben den häufig verwendeten Matrices Blut, Urin und Haare wurden Verfahren zum Nachweis von Alkoholkonsummarkern in Meconium erprobt, um retrospektive Aussagen zu maternalem Alkoholkonsum in der Schwangerschaft zu ermöglichen [31, 63].

1.5 Fragestellungen

Aus den skizzierten vielfachen Anwendungsgebieten der bereits vor allem in der Forensik etablierten Alkoholkonsummarker ergaben sich unter Berücksichtigung unterschiedlicher Bewertungsmaßstäbe eine Reihe weiterer relevanter praxisbezogener Fragen.

Vor dem Hintergrund einer angestrebten Abstinenzkontrolle waren die Diskriminierungspotenz der direkten Alkoholmarker zwischen gelegentlichen, chronisch-exzessiven Alkoholkonsumenten und Abstinenter an verschiedenen, größeren Probandenkollektiven zu prüfen.

Bei aus früheren Untersuchungen bekannten auftretenden Unterschieden in der Aussage zwischen FSEE und EtG wegen verschiedener Einflüsse auf die Einlagerung der Analyten im Haar, sollte ein kombiniertes Auswertungsverfahren an einem großen Probandenkollektiv hinsichtlich einer Aussageverbesserung erprobt werden.

Da FSEE über das Sebum in das Haar eingelagert werden, sollte experimentell geprüft werden, inwieweit sich allein die Untersuchung von mittels Pflastern an der Hautoberfläche gesammeltem Sebum für die Abstinenzkontrolle eignet.

Das klinisch-diagnostische Potenzial der FSEE sollte anhand der Bestimmung im Mekonium zur Detektion mütterlichen Alkoholkonsums in der Schwangerschaft untersucht werden.

Bei breiter forensischer Anwendung der FSEE sollte an einem ausgesuchten großen Kollektiv ein Beitrag zur regelmäßig diskutierten Grenzwertfindung geleistet werden.

In einer vergleichenden Studie traditioneller Alkoholmarker im Blut und direkter Alkoholkonsummarker im Haar bei einem Probandenkollektiv aus dem stationären Alkoholentzug sollte das Potenzial der neueren Marker zur klinischen Abstinenzkontrolle untersucht werden.

1.6 Methodik

Für den analytischen Nachweis der FSEE und des EtG sind inzwischen etablierte Verfahren der Dampfraum-Festphasen-Gaschromatographie-Massenspektrometrie (SPME-GC/MS) und der Flüssigchromatographie-Tandem-Massenspektrometrie (LC/MS/MS) gebräuchlich. Die Verfahrensetablierung war bereits Gegenstand früherer Arbeiten [23, 30, 54, 56, 63–68].

Für die Studien standen freiwillige Probanden Berliner Kliniken, Probanden aus dem persönlichen Umfeld der Arbeitsgruppe, Realproben aus arbeitsmedizinischer Indikation und Realproben von Sterbefällen, die für die Berliner Staatsanwaltschaft untersucht wurden, zur Verfügung. Für die Untersuchungen lagen jeweils Ethikvoti der Ethikkommission der Charité – Universitätsmedizin Berlin vor.

Die freiwilligen Probanden wurden über Art, Umfang und Zweck der Studien aufgeklärt und zum Alkoholkonsumverhalten und zur Haarpflege befragt. Alle personenbezogenen Daten wurden anonymisiert verwendet.

2. Eigene Arbeiten

2.1 Nachweis von chronischem Alkoholmissbrauch – Eignung von FSEE im Sebum

2.1.1 Zusammenfassung

FSEE werden in Talgdrüsen gebildet und über das Sebum (Haartalg) in die Haare eingelagert. Die Akkumulation der FSEE im Haar über das Sebum gilt als Haupteinlagerungsweg [55]. Die Zeit bis zum Austritt des Sebums an der Hautoberfläche (Transitionszeit) beträgt ca. 8 Tage. Unter dieser Voraussetzung sollte der Nachweis einer mehrere Tage zurückliegenden Alkoholaufnahme allein anhand der Bestimmung der C_{FSEE} im Sebum möglich sein.

Zur Verifizierung des Potentials der isolierten FSEE-Bestimmung im Sebum zur mittelfristigen retrospektiven Einschätzung des Alkoholkonsums wurde ein Pflastertest entwickelt und bei 52 Patienten im stationären Alkoholentzug, 20 Normaltrinkern und 15 Alkoholabstinenten durchgeführt. [98]

Das Sebum wurde mittels in der hautärztlichen Diagnostik gebräuchlicher Sebutape-Pflaster adsorbiert, nachdem die Haut mittels Azeton entfettet wurde. Für jede Probennahme wurden je drei Pflaster auf der Stirn appliziert und so die innerhalb von drei Stunden neu an der Hautoberfläche ausgetretenen Lipide gesammelt, mit n-Heptan von einer reproduzierbaren Oberfläche ($1,3 \text{ cm}^2$) gewaschen und mittels SPME und GC/MS die C_{FSEE} bestimmt. Zusätzlich wurde die Konzentration von Squalen, dem Hauptbestandteil der Hautoberflächenlipide, mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie bestimmt.

Zur Einschätzung des Alkoholkonsumverhaltens wurden von den Probanden die angegebenen Trinkmengen, die C_{FSEE} im Haar und konventionelle Alkoholkonsummarker (GGT, MCV, ALT und CDT) erfasst.

Bei den Probanden aus dem stationären Alkoholentzug wurden C_{FSEE} von 11,3 bis 857 ng pro Pflaster (Mittelwert: 84,3 ng) und im Haar von 0,29 bis 5,25 ng/mg (Mittelwert: 0,99 ng/mg), bei den Normaltrinkern 13,9 – 271 ng pro Pflaster, (Mittelwert 48,0 ng), 0,31 – 0,58 ng/mg im Haar (Mittelwert: 0,38 ng/mg) und bei den Alkoholabstinenten

3,6 – 32,0 ng pro Pflaster (Mittelwert: 16,0 ng) und 0,05 bis 0,13 ng/mg im Haar (Mittelwert: 0,07 ng/mg) gemessen.

Die über zwei Wochen bei vier Probanden aus dem stationären Alkoholentzug täglich wiederholte Pflasterapplikation zeigte auch zwei Wochen nach Abstinenzbeginn keine signifikante Abnahme der initial zu Abstinenzbeginn erfassten C_{FSEE} .

Für die Unterscheidung zwischen chronisch exzessivem und moderatem Alkoholkonsum wurde ein Cut-Off-Wert von 30 ng pro Pflaster auf Basis der gewonnenen Daten gewählt. Damit wurde in dem Probandenkollektiv chronisch exzessiver Alkoholkonsum mit einer Spezifität und Sensivität von 77 % erfasst.

Die Erfassung des Squalen-Gehaltes der gesammelten Hautoberflächenlipide zur Einschätzung ggf. verfälschender Einflüsse durch individuelle Unterschiede der Sebumproduktion, verbesserte die Ergebnisinterpretation nicht.

Die Bestimmung der C_{FSEE} in an der Hautoberfläche nach Entfettung neu ausgetretenen Lipiden erwies sich zur Detektion eines chronischen Alkoholmissbrauches als geeignet. Der Vergleich mit konventionellen Alkoholkonsummarkern erbrachte gegenüber CDT vergleichbare und gegenüber MCV, GGT und ALT bessere Ergebnisse.

2.1.2 Publikation

Hartwig S, Schwarz M, Nadulski T, Kienast T, Pragst F (2010)

Nachweis von chronischem Alkoholmissbrauch - Eignung von Fettsäureethylestern im Sebum. Rechtsmedizin 20(4):251–257

<http://dx.doi.org/10.1007/s00194-010-0688-y>

2.2 Kombiniertes Einsatz von FSEE und EtG bei der Arbeitsplatzüberwachung

2.2.1 Zusammenfassung

In der Berufswelt werden an die Zuverlässigkeit der Arbeitnehmer heute hohe Anforderungen gestellt. Dies gilt insbesondere für Berufe mit Verantwortung für Menschenleben wie beispielsweise im Personentransport.

Alkoholmissbrauch wird in diesem beruflichen Kontext nicht toleriert.

An einen Labormarker zur Überprüfung des Alkoholkonsumverhaltens sind hohe Ansprüche gestellt. Falsch negative Ergebnisse gefährden möglicherweise Unbeteiligte, wohingegen falsch positive Testergebnisse für den betroffenen Arbeitnehmer schwerwiegende Konsequenzen haben können.

Bestimmt wurden FSEE und EtG im Haar von 78 Arbeitnehmern aus einem Berufsfeld mit erhöhtem Gefährdungspotential für Dritte oder höherwertige Güter. Untersuchungsanlass war eine konkrete Vermutung des Arbeitgebers hinsichtlich eines nicht tolerablen Alkoholkonsums durch den Arbeitnehmer. In 59 dieser Fälle lagen vergleichend Informationen zu den parallel bestimmten traditionellen Alkoholmarkern AST, ALT, GGT und MCV vor.

Untersucht wurde bei Verfügbarkeit jeweils der kopfhautnahe Haarabschnitt 0-3 cm. Die Auswertung basierte auf den von der Society of Hair Testing 2009 zur Unterscheidung zwischen sozialem und chronisch exzessivem Alkoholkonsum verwendeten Grenzwerte für die C_{FSEE} 0,5 ng/mg Haar und für das EtG 30 pg/mg Haar. Für die Bewertung der FSEE- und EtG-Befunde wurde ein beide Parameter kombinierendes Schema angewandt.

In 60 % der Fälle (n = 50) ergaben sich aus der Haaranalyse keine Hinweise auf einen Alkoholmissbrauch. Bei 17 % (n = 13) ergaben sich undeutliche und bei 14 % (n = 11) deutliche Hinweise auf einen chronisch exzessiven Alkoholkonsum. Bei 4 der untersuchten Proben waren die Befunde der Haaranalyse so stark abweichend in ihrer Aussage, dass eine sichere Einschätzung des Alkoholkonsums nicht möglich war. Der Vergleich mit den traditionellen Alkoholmarkern erbrachte nur teilweise Übereinstimmungen in der Aussage. Bei vergleichsweise geringer Sensitivität und Spezifität der Blutalkoholmarker zeigten sich im Vergleich mit der Haaranalyse weniger positive Befunde.

Grundsätzlich ist die Haaranalytik für ein Workplace Drug Testing Programm zur Klärung der Alkoholkonsumgewohnheiten gut geeignet. Die parallele Bestimmung und gemeinsame Auswertung der FSEE und des EtG sind zu empfehlen. Eine Isolierte Betrachtung der natürlichen Schwankungen und ggf. äußeren Einflüssen unterworfenen Biomarker kann für ggf. gravierende Entscheidungen nicht maßgeblich sein.

2.2.2 Publikation

Hastedt M, Herre S, Pragst F, Rothe M, Hartwig S (2012)
Workplace Alcohol Testing Program by Combined Use of Ethyl Glucuronide and
Fatty Acid Ethyl Esters in Hair. Alcohol Alcohol. 47(2):127-32
<http://dx.doi.org/10.1093/alcalc/agr148>

2.3 FSEE im Mekonium als Marker für mütterlichen Alkoholkonsum in der Schwangerschaft

2.3.1 Zusammenfassung

Alkoholkonsum in der Schwangerschaft kann insbesondere im ersten Trimenon zu schweren Embryopathien führen. Eine häufige, leider oft nicht erkannte, mit dem Alkoholkonsum der werdenden Mutter assoziierte, für das betroffenen Kind teils dramatische Erkrankung ist das Fetale Alkohol Syndrom (FAS). Weniger schwere Störungen, die nach Alkoholmissbrauch nach dem ersten Trimenon auftreten können, werden unter dem Begriff FAE – Fetale Alkoholeffekte - zusammengefasst.

In Deutschland werden jährlich etwa 10.000 Kinder mit alkoholbedingten Folgeschäden geboren, von diesen gehen 4.000 mit einem FAS einher. Die Diagnose ist schwierig und kann nur bedingt durch Biomarker gestützt werden, da man invasive diagnostische Maßnahmen, zu denen bereits die Entnahme von Körperhaaren zählt, aus verschiedenen Gründen eher scheut.

Zudem sind Angaben zu den Trinkgewohnheiten der Mütter in der Situation einer Schwangerschaft mit professionellem Misstrauen zu bewerten.

Auf der Basis einer bereits in der Arbeitsgruppe erarbeiteten Methode zur Bestimmung von FSEE als Alkoholkonsummarker im Mekonium [63] erfolgte in dieser Studie die Anwendung der Methode an einem drogenassoziierten Probandinnenkollektiv (122 Fälle). Dabei erfolgte die FSEE-Bestimmung im Rahmen eines Drogenscreenings bei Müttern mit bekanntem Drogenkonsum.

In Ergänzung zu den in der Haaranalytik untersuchten FSEE Ethylmyristat, Ethylpalmitat, Ethyloleat und Ethylstearat wurden auch die FSEE Ethyllinolat, und Ethylliolenat bestimmt.

Bei 89 der 122 untersuchten drogenassoziierten Mekoniumproben wurde mindestens einer der untersuchten Wirkstoffe gefunden. In 25 Fällen wurde eine erhöhte FSEE-Konzentrationen festgestellt, wobei als Grenzwert eine FSEE-Konzentration von 0,5 ng/mg Mekonium angewendet wurde. Damit zählte Alkohol zu den im Probandenkollektiv am häufigsten konsumierten Substanzen.

Der Nachweis von FSEE ergänzt ein Drogenscreening im Mekonium sinnvoll und kann den vermutlich hohen Anteil an Alkohol konsumierenden Müttern in einem drogenassoziierten Probandinnenkollektiv erfassen. Damit sind auch Aussagen über ggf. zu erwartende Alkoholfolgeschäden bei den Kindern möglich.

2.3.2 Publikation

Hastedt M, Krumbiegel F, Gapert R, Tsokos M, Hartwig S (2013)
Fatty acid ethyl esters (FAEEs) as marker for alcohol in meconium: method
validation and implementation of a screening program for prenatal drug
exposure. Forensic Sci Med Pathol. 9(3):287-95
<http://dx.doi.org/10.1007/s12024-012-9385-3>

2.4 FSEE in Haaren als Alkoholmarker: Untersuchungen zur Grenzwertfindung

2.4.1 Zusammenfassung

In den vergangenen Jahren wurden wiederholt an Sektionsfällen FSEE-Bestimmungen im Haar vorgenommen [20–23, 54-56, 67]. Die hierbei postulierten Grenzwerte zur retrospektiven Einschätzung des Alkoholkonsums basierten dabei überwiegend auf kleinen Fallzahlen. Ein größeres Kollektiv, bestehend aus 1057 Sektionsfällen aus den Jahren 2005 bis 2011 wurde in der vorliegenden Studie retrospektiv ausgewertet, um zwischen Normaltrinkern und Personen mit exzessiv erhöhtem Alkoholkonsum mittels Haaranalyse auf FSEE durch die Ermittlung eines entsprechenden Grenzwertes unterscheiden zu können.

Unter dem Aspekt, dass bei den untersuchten Sektionsfällen Angaben aus den polizeilichen Ermittlungsakten und alkoholtypische, durch die Obduktion erfahrbare Organschäden auf einen chronisch-exzessiven Alkoholkonsum hinweisen, wurden alle Fälle ausgewertet, bei denen im Anschluss an die Obduktion FSEE-Bestimmungen vorgenommen wurden. In 80 % der untersuchten Fälle wurde mindestens ein alkoholmissbrauchstypischer pathologischer Organbefund erhoben. Anhand dieser Befunde und der Angaben in den Ermittlungsakten, erfolgte eine Einteilung der Fälle in 3 Gruppen: a) keine Hinweise auf Alkoholmissbrauch (soziales Trinkverhalten wird angenommen) (n = 168), b) unklarer Konsumstatus (n = 387), c) Alkoholmissbrauch (n = 502).

Es erfolgte eine Berechnung der Sensitivität und Spezifität der FSEE als Langzeitalkoholkonsummarker mit den Fällen aus der Gruppe a (kein Hinweis auf Alkoholmissbrauch) und (Hinweis auf Alkoholmissbrauch). Am selben Fallkollektiv wurde eine Receiver Operating Characteristic (ROC) Analyse zur Bestimmung des optimalen Cut-off-Wertes zur Unterscheidung zwischen den Gruppen für diese Methode durchgeführt.

Mit einer ermittelten Fläche unter der ROC-Kurve von 0,745 zeigte sich eine moderate Performance der Methode. Dies kann auf äußere Einflüsse wie Haarkosmetik oder ggf. Fäulnisveränderungen an postmortal gewonnenem Material zurückgeführt werden. Die in früheren Untersuchungen ermittelten Sensitivitäten und Spezifitäten sind vor dem Hintergrund kleiner Fallzahlen anhand der gewonnenen Daten kritisch zu

bewerten. Die segmentweise Untersuchung der Haarproben ergab keinen erkennbaren Niveauunterschied zwischen den Konzentrationen in den proximalen Haarsegmenten 0-3 cm und 0-6 cm.

Die untersuchten FSEE erwiesen sich in der Summe über einen Zeitraum von ca. 800 Tagen als lagerungsstabil. Als optimal muss die lichtgeschützte und trockene Lagerung bei Raumtemperatur angesehen werden.

Auf Basis der in dieser Studie erhobenen Daten liegt der optimale Cut-off für die FSEE im Haar zur postmortalen Unterscheidung zwischen sozialem Trinkverhalten und chronisch exzessivem Alkoholkonsum bei 1,08 ng/mg. Dabei betragen die Sensitivität 56 % und die Spezifität 80 %.

Eine Fokussierung auf einzelne der vier untersuchten FSEE als Alkoholkonsummarker und damit eine Vereinfachung der Analytik erscheinen nach den erhobenen Daten möglich.

2.4.2 Publikation

Hastedt, M, Bossers L, Krumbiegel F, Herre S, Hartwig S (2013)

Fatty acid ethyl esters in hair as alcohol marker: Estimating a reliable cut-off by evaluation of 1057 autopsy cases. Forensic Sci Med Pathol. 9(2):184-93

<http://dx.doi.org/10.1007/s12024-013-9425-7>

2.5 Vergleich der direkten Alkoholmarker FSEE und EtG mit konventionellen, indirekten Alkoholmarkern

2.5.1 Zusammenfassung

Bei 169 Probanden wurden die konventionellen indirekten Alkoholmarker CDT, GGT, AST, ALT und MCV mit den direkten Alkoholmarkern EtG und FSEE verglichen. Die Probanden setzten sich aus Patienten in den Entzugskliniken der Charité und im St. Hedwigs Krankenhaus Berlin sowie Abstinenzlern und Normaltrinkern aus dem sozialen Umfeld der Forschungsgruppe zusammen. Von den Probanden wurden jeweils detaillierte Angaben zu den Trink- und Haarpflegegewohnheiten erfragt und die Ergebnisse der klinischen und chemisch-toxikologischen Laboruntersuchungen erfasst. Um verfälschende Effekte durch eine Normalisierung der traditionellen Laborparameter im Blut auszuschließen, durfte der Beginn der Alkoholabstinenz in der Gruppe der Entzugspatienten nicht mehr als 2 Wochen zurückliegen.

Die Sensitivitäten und Spezifitäten der untersuchten Marker wurden berechnet, die Methodenperformances als Fläche unter der ROC curve AUC sowie die optimalen Cut-off-Werte bzw. oberen Normbereichsgrenzen ermittelt. Unter den untersuchten Parametern wurden die besten Methodenperformances für EtG (0,941), GGT (0,943) und CDT (0,899) berechnet.

Die auf Basis der erhobenen Daten durchgeführte optimierte Grenzwertberechnung für den kopfhautnahen, proximalen, 0–3 cm langen Haarabschnitt ergab für EtG einen Grenzwert zur Unterscheidung von Normaltrinkern und Alkoholikern von 28 pg/mg Haar und für FSEE von 0,675 ng/mg Haar.

In der Studie konnte gezeigt werden, dass FSEE und EtG gegenüber den traditionellen Blutparametern in ihrer Aussage nicht schlechter abschnitten. Die Kombinierte Auswertung der FSEE und des EtG reduzierte die Zahl falsch positiver Ergebnisse, die vorwiegend auf haarkosmetischen Einflüssen beruhen.

2.5.2 Publikation

Hastedt M, Büchner M, Rothe M, Gapert R, Krumbiegel F, Tsokos M, Kienast T, Heinz A, Hartwig S (2013)

Detecting alcohol abuse: comparison between traditional alcohol markers from blood and ethyl glucuronide and fatty acid ethyl esters as alcohol markers in hair. *Forensic Sci Med Pathol.* *Forensic Sci Med Pathol.* 9(4):471-7

<http://dx.doi.org/10.1007/s12024-013-9416-8>

3. Diskussion und Ausblick

Die langjährige Auseinandersetzung mit dem analytischen Nachweis und der Interpretation von Alkoholkonsummarkern vor dem Hintergrund einer forensischen Anwendung zwingt zu einer steten kritischen Überprüfung der gewonnenen Erkenntnisse, der Detektion von möglichen Einflussfaktoren und der Verfeinerung und Validierung etablierter Methoden zur Unterscheidung zwischen unterschiedlichen Alkoholkonsumgruppen und zum sicheren Beleg einer Alkoholabstinenz. Dabei sind auch etablierte Verfahren zur Optimierung bisher konsentierter Grenzwerte an größeren Kollektiven zu prüfen, um die Aussagekraft, die den konventionellen Alkoholmarkern häufig überlegen ist, auf eine breite Datenbasis zu stellen.

Bezogen auf die forensisch relevanten direkten im Haar bestimmten Alkoholkonsummarker FSEE und EtG werden die Grenzwerte zur Unterscheidung der Konsumgruppen alle zwei Jahre auf der Basis der aktuellen Studienlage in der Society of Hair Testing (SoHT) konsentiert [57–58, 78].

Je nach Rechtsrahmen geben neben der SoHT auch andere Institutionen und Fachgesellschaften wie die Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie (GTFCh), die Bundesanstalt für Straßenwesen (BASt), die Deutsche Gesellschaft für Verkehrsmedizin (DGVM) und die European Workplace Drug Testing Society (EWDTS) Richtlinien zur Durchführung forensisch-toxikologischer Analysen und zur Bestimmung und Bewertung der FSEE und EtG in verschiedenen Matrices vor [10, 40–41, 97].

Anhand einer großen Fallzahl ($n = 1057$) im Institut für Rechtsmedizin der Charité in den Jahren 2005 bis 2011 untersuchter Todesfälle mit postmortal erfolgter Bestimmung der C_{FSEE} im Haar wurden Untersuchungen zur Grenzwertfindung durchgeführt. Die anhand der Todesumstände, polizeilichen Ermittlungen und Sektionsbefunde in zwei Konsumgruppen (kein Hinweis auf Alkoholmissbrauch / Hinweis auf Alkoholmissbrauch) unterteilten Fälle wurden zur Berechnung von Sensitivität und Spezifität sowie mittels ROC-Analyse zur Bestimmung der optimalen Entscheidungsgrenze (Cut-off-Wert) zwischen den beiden Konsumgruppen herangezogen.

Mit einer AUC von 0,745 zeigte die ROC-Analyse nur eine moderate Performance der Methode zur Unterscheidung zwischen den Konsumgruppen. Als ein wesentlicher Einflussfaktor auf die C_{FSEE} im Haar gelten haarkosmetische Behandlungen [21, 55]. Im gewählten Studiendesign konnte dieser Einfluss anders als bei Studien mit lebenden Probanden, die zu diesem Punkt befragt werden, nur sehr eingeschränkt berücksichtigt werden. Dies kann als ein Grund für die eher moderate Methodenperformance angenommen werden. Ein weiterer Störfaktor am postmortal gewonnenen Material können Fäulnisprozesse oder äußere Kontaminationen sein.

Bei einer Sensitivität von 56 % und einer Spezifität von 80 % unter Verwendung des optimierten ermittelten Grenzwertes von C_{FSEE} 1,08 ng/mg Haar zur postmortalen Unterscheidung zwischen chronisch-exzessivem und sozial anerkanntem Trinkverhalten, konnte die Zahl falsch positiver Testergebnisse minimiert werden. In der Studie zeigten sich zwischen den unterschiedlichen Segmentlängen (0–3 cm und 0–6 cm) keine auffälligen Niveauunterschiede. Die Untersuchung beider Segmentlängen ist nach den Studienergebnissen zur Detektion eines chronisch-exzessiven Alkoholmissbrauches geeignet. Die Untersuchung kürzerer Haare als 3 cm ist wegen der kumulativen Einlagerung über das Sebum nicht zu empfehlen, da dies zu falsch negativen Ergebnissen führen kann.

Die im Vergleich zu früheren Studien geringere Spezifität und Sensitivität kann einerseits an dem untersuchten Kollektiv mit den oben skizzierten Einschränkungen, aber auch an den geringeren Fallzahlen vergangener Studien liegen.

Es wurde empfohlen, den zum Studienzeitpunkt gemäß SoHT bei C_{FSEE} 0,5 ng/mg Haar liegenden Cut-off-Wert [57-58] anzuheben.

Der aktuelle Konsensus der SoHT lässt einen möglichen Einfluss der untersuchten Haarlänge auf das Testergebnis miteinfließen. Für das kopfhautnahe Segment 0 – 3 cm gelten 0,5 ng/mg Haar und für das Segment 0 – 6 cm 1,0 ng/mg Haar als Entscheidungsgrenze [78]. Die Untersuchungen machen weiteren Forschungsbedarf zur Grenzwertfindung deutlich. Auch die zu untersuchende Haarlänge ist Gegenstand neuerer Untersuchungen [87]. Eine Möglichkeit, störende Einflüsse auf die Ergebnisse

der EtG- und FSEE-Bestimmungen zu minimieren, ist die gleichzeitige Bestimmung und gemeinsame Interpretation beider Marker im Haar [91].

Das Prinzip einer kombinierten Auswertung beider Alkoholkonsummarker im Haar beruht auf der Überlegung, die wegen der unterschiedlichen Einlagerungswege ins Haar und unterschiedlichen Empfindlichkeit gegenüber äußeren Einflüssen, wie haarkosmetischen Behandlungen, differente Aussagekraft zu verbessern.

Ein anderer Ansatz zur Aussageverbesserung und Methodenvereinfachung wurde mit der isolierten Betrachtung der Hautoberflächenlipide gewählt. Die herausragende Bedeutung des Sebums bei der Einlagerung der FSEE in das Haar wurde bereits in früheren Arbeiten erkannt [20-23, 55-56]. Abgeleitet hiervon wurden Möglichkeiten geprüft, angesichts der labortechnisch aufwändigen Haaranalytik mit der direkten Untersuchung der Hautoberflächenlipide vergleichbare Ergebnisse zu erzielen [92]. Zudem ist der störende Einfluss haarkosmetischer Behandlungen bei direkter Gewinnung und Untersuchung des Sebums deutlich reduziert. In der vorgelegten Studie wurden mittels Lipid adsorbierender „Drug-of-Abuse“-Pflaster, das an der Hautoberfläche innerhalb eines definierten Zeitraumes von drei Stunden an der Stirn, einem Ort großer Talgdrüsendichte, ausgetretene Sebum gesammelt und auf den Gehalt an FSEE geprüft. Die Untersuchungen erfolgten bei den stationären Patienten zu unterschiedlichen Zeitpunkten bezogen auf den Abstinenzbeginn. Unter der Annahme einer Transitionszeit von im Mittel 8 Tagen sollte eine retrospektive Beurteilung des Alkoholkonsums über einen mittelfristigen Zeitraum möglich sein. Um die interindividuell unterschiedliche Talgproduktion in die Beurteilung einfließen zu lassen, wurde neben den Fettsäureethylestern auch die Konzentration von Squalen, dem Hauptbestandteil der Hautlipide bestimmt. Sofern vorhanden, erfolgten auch Fettsäureethylesterbestimmungen in Haaren der Probanden und bei den stationären Patienten Vergleiche mit erfassten konventionellen Alkoholmarkern. [98]

Bei 52 Patienten im stationären Alkoholentzug wurden bei 330 Probennahmen mit Einsatz von je drei Pflastern C_{FSEE} zwischen 11,3 und 857 ng pro Pflaster (Mittelwert: 84,3 ng), und 0,29 bis 5,25 ng/mg Haar ($n = 24$, Mittelwert 0,99 ng/mg) festgestellt.

Die Trinkmengenangaben in den letzten zwei Wochen vor Probennahme lagen zwischen 13 und 700 g EtoH pro Tag. Eine direkte Korrelation zwischen den angegebenen Trinkmengen und den C_{FSEE} zeigte sich nicht.

Bei der Vergleichsgruppe der Normaltrinker wurden bei 62 Werte von 13,9 – 271 ng pro Pflaster (Mittelwert 48,0 ng, n = 62) und 0,31 – 0,58 ng/mg Haar (Mittelwert 0,38 ng/mg) und bei den Alkoholabstinenten Werte von 3,6 – 32,0 ng pro Pflaster (Mittelwert 16,0 ng, n = 94) und 0,05 bis 0,13 ng/mg Haar (Mittelwert 0,07 ng/mg) gemessen.

Zwischen den Konsumgruppen zeigten sich bei entsprechenden Überlappungen somit im Mittel deutliche Unterschiede, die eine retrospektive Differenzierung des Alkoholkonsumverhaltens ähnlich der Interpretation entsprechender Haaranalysen ermöglichen. Eine in jedem Fall sichere Diskriminierung zwischen den Konsumgruppen ist auf der bisherigen Datenbasis mit dieser Methode noch nicht möglich.

Anhand der gewonnen Daten wurde ein Grenzwert zur Unterscheidung zwischen moderatem und exzessiven Trinkverhalten von der Alkoholabstinenz von 30 ng pro Pflaster angenommen und eine Sensitivität und Spezifität von 77 % zur Erfassung chronisch-exzessiven Alkoholkonsums 14 Tage nach Abstinenzbeginn bestimmt.

Die bei einem Teil (n = 4) der Patienten über zweiwöchige tägliche Testung zeigte keine Abnahme der C_{FSEE} über den untersuchten Zeitraum. Somit kann der Nachweis eines chronisch-exzessiven Alkoholmissbrauches mit dieser Methode auch noch 2 Wochen nach Abstinenzbeginn geführt werden. Dies ist insofern bedeutsam, als konventionelle Alkoholmarker nach 2 Wochen möglicherweise wieder im Normbereich liegen.

Die Erfassung und gemeinsame Auswertung von Squalen als internem, natürlichem Standard brachte in der vorliegenden Studie keine Vorteile bei der Interpretation der Ergebnisse der Fettsäureethylesterbestimmungen. Die individuelle Talgproduktion ist demnach für die Aussagekraft der untersuchten Analyten nicht von Bedeutung.

Die Annahme einer verzögerten „Ausscheidung“ der FSEE über das Sebum wurde durch Einmaltaufnahmen moderater Alkoholmengen mit bereits nach wenigen Stunden messbar erhöhter C_{FSEE} im Sebum widerlegt. Bei Haaranalysen hingegen werden einmalige Trinkereignisse wegen der „Verdünnungseffekte“ durch telogene Haare nicht erfasst [90].

Durch eine Entfettung der untersuchten Hautregion mittels Azeton wurde nur das in der Zeit der Pflasterapplikation neu an der Hautoberfläche ausgetretene Sebum gesammelt und analysiert. Ein möglicher Einfluss durch Haarkosmetika oder bakterielle Zersetzung wurden damit ausgeschlossen. Ein Eintrag über den Schweiß ist bei den untersuchten Analyten vernachlässigbar.

Gegenstand der Studie war auch die Prüfung der praktischen Anwendung der Methode. Das Tragen der Pflaster an exponierter Stelle über mehrere Stunden wurde von den Probanden als stigmatisierend empfunden. Eine während des Tragens vermehrte Schweißproduktion führte zu einer geringeren Adsorption der FSEE.

Der Pflastertest hat sich trotz der relativ guten, mit der Haaranalyse vergleichbaren Ergebnisse zur Differenzierung der Alkoholkonsumgruppen bislang nicht in der Praxis durchgesetzt. Insbesondere die vergleichsweise lange Pflastertragezeit ist für die routinierte Anwendung der Methode hinderlich.

Das Potenzial der untersuchten Marker FSEE und EtG zur Erkennung eines zurückliegenden Alkoholkonsums, grundsätzlicher Alkoholkonsumgewohnheiten und zur Alkoholabstinenzkontrolle ist nicht nur auf Anwendungen auf dem Gebiet der Rechtspflege beschränkt.

Die vorliegenden Studienergebnisse eröffnen die Möglichkeit klinischer Anwendungen in der Neonatologie und Pädiatrie, der Transplantationsmedizin und der Suchtmedizin.

Auf der Basis einer bereits entwickelten Methode und ersten Erfahrungen zum Nachweis von FSEE im Mekonium Neugeborener [63] wurde eine Studie an 122 Patientinnen eines drogenassoziierten Kollektivs von Müttern, bei denen ein

Drogenscreening notwendig war, durchgeführt. Zugleich wurde die Methode optimiert, wodurch eine höhere Sensitivität erreicht werden konnte.

Neben den bei 89 der untersuchten Fälle im Mekonium festgestellten Wirkstoffen (Methadon, Morphin, Codein und Kokain) fanden sich bei 25 Fällen unter Anwendung des bereits in der Vorstudie postulierten Summengrenzwertes von 0,5 ng/mg Mekonium erhöhte C_{FSEE} als Hinweis auf einen maternalen Alkoholkonsum in der Schwangerschaft. Damit war Alkohol im untersuchten drogenassoziierten Kollektiv neben Methadon und Morphin (Heroin) eine der häufigsten missbrauchten Substanzen. Die Inzidenz war damit dreimal höher als in der zugrundeliegenden Pilotstudie [63], was in den heterogenen Probandenkollektiven begründet ist.

Die nicht-invasive Methode der Mekoniumanalyse auf Alkoholkonsummarker kann einen wesentlichen Beitrag zur frühen Erkennung potenzieller fetaler Alkoholeffekte leisten und sollte - nach den gewonnenen Erkenntnissen zur offenbar hohen Inzidenz maternalen Alkoholmissbrauchs in der Schwangerschaft in einem drogenassoziierten Kollektiv von ca. 20 % - fester Bestandteil und Ergänzung eines Drogenscreenings im Mekonium zur Detektion pränatalen Alkoholkonsums der Mutter sein.

Inzwischen wurden weitere Studien auch an nicht-drogenassoziierten Kollektiven durchgeführt [69–71]. Das Spektrum der untersuchten Alkoholkonsummarker wurde zum Teil erweitert. So wurde neben FSEE und EtG auch EtS mit vergleichbaren Ergebnissen untersucht [72-73, 75–76]. In einer vergleichenden Studie wurden zusätzlich zum Mekonium der Kinder Haare und Nägel der Mütter auf EtG untersucht. Die Untersuchung von Haaren und Nägeln erwies sich als weniger empfindlich gegenüber der Mekoniumuntersuchung bei geringen und moderaten Alkoholtrinkmengen [74]. Es zeigten sich dagegen gute Korrelationen zwischen der EtG-Konzentration im Haar für das zweite und dritte Trimenon und des neonatalen Mekoniums [75].

In einer Studie an 557 Frauen gaben rund 21 % der Probandinnen geringen bis moderaten Alkoholkonsum in der Schwangerschaft an. Für das im Mekonium bestimmte EtG ergaben sich signifikante Übereinstimmungen mit den von den Probandinnen getroffenen Trinkmengenangaben [69]. In einer weiteren Studie an 110

Neugeborenen ergaben sich bei ca. 35 % der Fälle Hinweise auf einen maternalen Alkoholkonsum in der Schwangerschaft. Die Marker FSEE und EtG waren bei 17 % der Fälle unter Anwendung eines Grenzwertes für FSEE von 1000 ng/g Mekonium und für EtG von 50 ng/g Mekonium positiv getestet worden. Bei der Hälfte der positiv auf FSEE getesteten Fälle lag die Konzentration über 5000 ng/g Mekonium. Diese Werte gingen mit einem geringeren Geburtsgewicht der Kinder einher. Weniger als 5 % der Studienteilnehmerinnen gaben gelegentlichen Alkoholkonsum in der Schwangerschaft zu [71].

Die vorliegenden Studien belegen die Notwendigkeit objektiver, nicht invasiver Testverfahren zur Detektion maternalen Alkoholkonsums bei in diesen Kollektiven kritisch zu bewertenden Selbstauskünften zum Alkoholkonsum und geringem Problembewusstsein vieler Mütter. Mit den inzwischen etablierten Methoden zur Bestimmung der C_{FSEE} und der EtG-Konzentration im Mekonium stehen von der Kindesmutter unabhängige und das Kind nicht beeinträchtigende, valide Verfahren zur Einschätzung des maternalen Alkoholkonsums zur Verfügung.

Um die Eignung der FSEE und des EtG als Langzeitalkoholmarker zur Abstinenzkontrolle beispielsweise in der ambulanten oder stationären Entzugsbehandlung zu überprüfen, wurde eine Studie an 169 Probanden durchgeführt, bei denen FSEE, EtG und die konventionellen Marker AST, ALT, MCV, GGT und CDT verglichen wurden. Die Marker wurden bei Probanden in klinischen Alkoholentzugsprogrammen und Probanden mit sozialem Trinkverhalten sowie Alkoholabstinenten bestimmt. Der Einfluss einer Normalisierung der konventionellen Marker auf das Studienergebnis wurde durch das Ausschlusskriterium eines mehr als zwei Wochen zurückliegenden Abstinenzbeginns für die Probanden im Alkoholentzug minimiert.

Für alle Marker wurden die optimalen oberen Normbereichsgrenzen bzw. Entscheidungsgrenzen am untersuchten Kollektiv ermittelt. Die besten Methodenperformances (als ROC curve AUC) zeigten EtG (0,941), GGT (0,943) und CDT (0,899). Damit ergab sich insbesondere für das EtG eine vergleichbare Aussagekraft, wie für die konventionellen Labormarker mit der höchsten Spezifität. Eine Kombinierte Betrachtung von CDT und EtG zur Detektion eines Alkoholmissbrauches wurde bereits empfohlen [86].

Im gewählten Studiendesign mit kurzem Abstand zum Abstinenzbeginn wurde die Überlegenheit der Haarmarker gegenüber den konventionellen Markern bei längerer Abstinenz nicht deutlich. Einflüsse anthropometrischer Faktoren oder des Geschlechts wurden wie in anderen aktuellen Studien nicht festgestellt [82, 83]. Dagegen spielen ggf. geschlechtsbevorzugte haarkosmetische Behandlungen eine Rolle. Die Anwendung von Haarfärbe- und -bleichmitteln kann die EtG-Konzentration im Haar senken [83, 94]. Die Anwendung alkoholhaltiger Haarkosmetika kann im Gegensatz zum EtG die FSEE-Konzentration im Haar erhöhen. Häufiges Waschen der Haare hat allerdings keinen relevanten Einfluss auf die EtG- und FSEE-Konzentration im Haar [21, 55-56, 88, 95].

Die Anhand der gewonnenen Daten durchgeführte optimierte Grenzwertberechnung ergab bei einer untersuchten Haarlänge (kopfhautnaher Abschnitt) von 3 cm eine Entscheidungsgrenze (Cutt-off-Wert) zur Diskriminierung eines chronisch-exzessiven Alkoholkonsums von 28 pg/ng Haar für das EtG und von 0,675 ng/mg Haar für die FSEE. Dies entspricht bezüglich des EtG im Wesentlichen auch den Ergebnissen anderer Studien und der Entscheidungsgrenze des aktuellen Konsensus der SoHT für EtG [77-78]. Wie bereits oben ausgeführt zeigte sich dagegen für die FSEE, dass der von der SoHT konsentiierte Grenzwert von 0,5 ng/mg Haar für die FSEE im kopfnahen Haarsegment von 0-3 cm offenbar zu niedrig gewählt ist. Bei isolierter Betrachtung der C_{FSEE} könnte es zu falsch positiven Ergebnissen kommen. Dem wirkte in der Studie die kombinierte Auswertung beider Haaralkoholkonsummarker entgegen. Insbesondere die Einflüsse haarkosmetischer Behandlungen lassen sich durch die kombinierte Interpretation der Marker EtG und FSEE minimieren. Dies wird durch weitere Studien bestätigt [79, 89].

Eine zunehmende Rolle spielen Alkoholabstinenzbelege in der Arbeitsplatzüberwachung. Hier sind es vor allem Berufsgruppen mit Verantwortung für Menschenleben und hochwertige Güter, die im Fokus der Untersuchungen stehen. Eine unbegründete, routinemäßige Überwachung, wie beispielsweise in den USA, ist hierzulande nicht zulässig. Anlass für entsprechende Untersuchungen muss die konkrete Vermutung eines Substanzmissbrauches sein. Wegen der für Unbeteiligte und die Betroffenen ggf. erheblichen Konsequenzen sind die Anforderungen an die

Zuverlässigkeit der Testverfahren in Anlehnung an die Ansprüche bei der Fahreignungsbegutachtung hoch.

Bei 78 Abreitnehmern wurden aus arbeitsmedizinischer Indikation wegen eines konkreten Verdachts auf Alkoholmissbrauch FSEE und EtG in Haarproben untersucht. Für die Auswertung standen bei 59 dieser Fälle Angaben zur bestimmten GGT, AST, ALT und zum MCV vor.

Unter Anwendung der Grenzwerte für EtG von 30 pg/mg Haar und für FSEE von 0,5 ng/mg Haar im kopfnahen Segment 0-3 cm und einer kombinierten Auswertung beider Marker ergaben sich in 60 % der Fälle (n = 50) aus der Haaranalyse keine Hinweise auf einen Alkoholmissbrauch. Bei 14 % (n = 11) der Fälle wurden deutliche, bei 17 % (n = 13) der Fälle undeutliche Hinweise auf einen Alkoholmissbrauch gefunden. In 4 der untersuchten Fälle wichen die Ergebnisse der FSEE- und EtG-Bestimmung stark voneinander ab, so dass eine Aussage allein anhand dieser Marker nicht möglich war. Der Vergleich mit den konventionellen Markern ergab im untersuchten Probandenkollektiv keine deutliche Übereinstimmung.

Grundsätzlich eignen sich die untersuchten direkten Alkoholmarker im Haar zum Workplace Drug Testing. Die Ergebnisse machen weiteren Forschungsbedarf in der Arbeitsplatzüberwachung deutlich. Wie bereits bei den vorgestellten Studien zeigte sich auch hier der Vorteil einer kombinierten Interpretation der FSEE und des EtG.

Wie auch für familiengerichtliche Entscheidungen, ist die isolierte Betrachtung einzelner Biomarker vor dem Hintergrund der verknüpften sozialen und Rechtsfolgen, wegen bekannter natürlicher Schwankungen und äußerer Einflüsse, abzulehnen.

Die European Workplace Drug Testing Society (EWDTs) empfiehlt in den European Guidelines for Workplace Drug and Alcohol Testing [97] die im Konsensus der SoHT publizierten Entscheidungsgrenzen [78].

Die in den vorgelegten kumulativ zusammengefassten Arbeiten untersuchten direkten Alkoholkonsummarker EtG und FSEE sind auf einer soliden Datenbasis heute auf dem Gebiet der Rechtspflege weitgehend etabliert. Neben bereits routinemäßigen

Anwendungen der Methoden zur Abstinenzkontrolle in der Fahreignungsdiagnostik werden auch Anwendungen im Strafvollzug beschrieben [80].

Gegenstand der gegenwärtigen Forschungen sind kombinierte Auswerteverfahren und ggf. die kombinierte Interpretation mit klinisch etablierten Markern [81, 84, 86]. Weitere Untersuchungen an größeren Kollektiven zur optimierten Grenzwertfindung sind nötig [93].

Die durch die vorgelegten Studien belegte gute Eignung der in verschiedenen biologischen Matrices bestimmbaren direkten Alkoholmarker schafft Vertrauen in die „neuen“ Alkoholmarker und ebnet auch klinischen Anwendungen den Weg.

Neben der skizzierten Möglichkeit, maternalen Alkoholkonsum in der Schwangerschaft mit den etablierten Methoden zu detektieren, spielen Abstinenz belegende Verfahren in der Transplantationsmedizin eine wichtige Rolle. Die klinischen Verfahren zur Abstinenzkontrolle sind mit Problemen behaftet [85]. Die Aussagesicherheit der untersuchten direkten Alkoholmarker ist insbesondere bei alkoholunabhängig pathologischen konventionellen Alkoholmarkern von Vorteil. In der Berliner Arbeitsgruppe werden seit geraumer Zeit entsprechende Untersuchungen innerhalb der Charité angeboten.

Die gewachsene Bedeutung dieser im forensischen Kontext bereits etablierten Verfahren spiegelt sich in den 2015 geänderten Richtlinien der Bundesärztekammer zur Organtransplantation gemäß § 16 Transplantationsgesetz (TPG) wieder [96]. Die Aufnahme in die Warteliste bei alkoholinduzierter Leberzirrhose erfolgt erst nach dem Erbringen eines Abstinenzbeleges über 6 Monate. Die Alkoholkarenz wird dabei bei jeder ambulanten Patientenvorstellung mittels einer EtG-Bestimmung im Urin mit einem Nachweisfenster für einen stattgehabten Alkoholkonsum von bis zu drei Tagen überprüft. Die Bestimmung von EtG im Haar und CDT im Blut ist optional.

4. Zusammenfassung

Die mit Alkoholmissbrauch assoziierten gesundheitlichen, sozialen und gesellschaftlichen Herausforderungen sind enorm. Die permanente Verfügbarkeit, weite Verbreitung und gesellschaftliche Akzeptanz des Alkohols ebnen dem Missbrauch den Weg. Die Kosten, die durch Alkoholfolgekrankheiten, alkoholassoziierte Unfälle und Straftaten entstehen, sind immens. Verfahren zur Feststellung einer akuten Alkoholisierung sind seit langer Zeit etabliert. Vor dem Hintergrund rechtlicher Implikationen wurden in der jüngeren Vergangenheit Methoden zum retrospektiven Nachweis eines Alkoholmissbrauches und zum Beleg der Alkoholabstinenz entwickelt. Der Anspruch an die Validität solcher Nachweisverfahren ist vor dem Hintergrund der damit womöglich verknüpften Rechtsfolgen hoch. Die bereits etablierten forensischen Verfahren zum Nachweis chronisch-exzessiven Alkoholkonsums und einer Alkoholabstinenz fokussieren auf direkte, für eine Alkoholaufnahme spezifische Alkoholkonsummarker, die in verschiedenen biologischen Matrices bestimmt werden können. Besonders geeignet für retrospektive Langzeitaussagen sind hierfür - ähnlich wie bei Betäubungsmitteln - Urin- und Haaranalysen. Als Marker sind Fettsäureethylester (FSEE) und Ethylglucuronid (EtG) als Nebenmetabolite des Ethanolstoffwechsels gebräuchlich.

Ziel der kumulativ zusammengefassten fünf Arbeiten war es, die Methoden zum Nachweis der forensisch etablierten Alkoholkonsummarker hinsichtlich ihrer Diskriminierungspotenz zwischen gelegentlichem, chronisch-exzessivem Alkoholkonsum und Abstinenz an unterschiedlichen Kollektiven und im Vergleich mit konventionellen Alkoholmarkern zu prüfen, die Nachweisverfahren zu vereinfachen, Verfahren zur kombinierten Auswertung von EtG und FSEE zu etablieren und das klinisch-diagnostische Potential zur Detektion maternalen Alkoholmissbrauches in der Schwangerschaft zu eruieren.

Unter Verwendung bereits entwickelter Messverfahren zur Konzentrationsbestimmung der FSEE in Haaren und Sebum wurden bei 87 Probanden die an der Haut nach Entfettung innerhalb von drei Stunden gebildeten Hautlipide mittels Pflastern gesammelt und die Fettsäureethylesterkonzentration (C_{FSEE}) im Pflaster bestimmt.

Bei 52 Patienten im stationären Alkoholentzug wurden im Mittel 84,3 ng (11,3 bis 857 ng), bei 20 Normaltrinkern im Mittel 48,0 ng (13,9 – 271 ng) und bei 15 abstinenten Probanden im Mittel 16,0 ng (3,6 – 32,0 ng) pro Pflaster gemessen. Bei einem Grenzwert von 30 ng pro Pflaster wurde ein chronisch-exzessiver Alkoholkonsum mit einer Spezifität und Sensitivität von 77 % erfasst. Die Ergebnisse korrelierten mit der C_{FSEE} im Haar und mit CDT.

Bei 78 Arbeitnehmern aus sensiblen Berufsgruppen wurden aus arbeitsmedizinischer Indikation bei Verdacht auf Alkoholmissbrauch Haarproben auf ihren Gehalt an FSEE und EtG untersucht und mit verfügbaren konventionellen Alkoholmarkern verglichen. In 60 % der Fälle (n = 50) erbrachte die Haaranalyse keine Hinweise auf einen stattgehabten Alkoholmissbrauch, bei 13 Fällen ergaben sich dagegen undeutliche und bei 11 Fällen deutliche Hinweise auf chronisch-exzessiven Alkoholkonsum. Die Ergebnisse korrelierten in diesem Kollektiv nur teilweise mit den konventionellen Markern. Bei 4 der untersuchten Fälle waren die aus der Haaranalyse gewonnenen Aussagen für FSEE und EtG unterschiedlich. Die Untersuchungen belegen die grundsätzliche Eignung der Alkoholmarker im Haar für arbeitsmedizinische Fragestellungen. Wegen der äußeren Einflüsse und natürlichen Schwankungen der Marker ist eine kombinierte Auswertung beider Marker zu empfehlen.

Zur Detektion maternalen Alkoholmissbrauches in der Schwangerschaft wurde bei einem drogenassoziierten Probandinnenkollektiv in 122 Fällen Mekonium Neugeborener auf den Gehalt an FSEE untersucht. Die Untersuchungen fanden im Zusammenhang mit einem indizierten Drogenscreening statt. Bei 89 Proben wurden Betäubungsmittel festgestellt. In 25 Fällen fanden sich erhöhte Fettsäureethylesterkonzentrationen im Mekonium, die einen Rückschluss auf einen mütterlichen Alkoholkonsum in der Schwangerschaft ermöglichten. Der Anteil alkoholkonsumierender Mütter war im untersuchten drogenassoziierten Kollektiv damit hoch. Die Methode ermöglicht Abschätzungen zu möglichen Alkoholfolgeschäden beim Kind. Die Entscheidungsgrenze lag bei C_{FSEE} 0,5 ng/mg Mekonium.

Bei 1057 Sektionsfällen wurden Untersuchungen zur Grenzwertfindung durchgeführt. Die ermittelte optimale Entscheidungsgrenze zur Unterscheidung von chronisch-exzessivem Alkoholkonsum und moderatem Trinkverhalten lag für FSEE bei 1,08

ng/mg Haar. Die Sensitivität der Methode lag im betrachteten Kollektiv bei 56 %, die Spezifität bei 80 %. Die Methode erwies sich damit geeignet für den postmortalen Nachweis chronisch-exzessiven Alkoholkonsums.

Bei 169 Probanden aus klinischen Alkoholentzugsprogrammen und Probanden mit moderatem oder fehlendem Alkoholkonsum wurden konventionelle Alkoholmarker mit EtG und FSEE verglichen. Es zeigten sich gute Korrelationen zwischen den direkten Alkoholmarkern und den konventionellen Markern mit der höchsten Spezifität.

Die fünf referierten eigenen Studien zeigten übereinstimmend, dass EtG und FSEE im Haar, Sebum und Mekonium als Alkoholkonsummarker geeignet sind und in der Aussage den konventionellen Alkoholmarkern nicht unterlegen sind. Das Potential der direkten Alkoholkonsummarker liegt in der postmortalen Nachweismöglichkeit, der gegenüber den konventionellen Markern höheren Spezifität und möglichen retrospektiven Langzeitaussagen zum Alkoholkonsum.

5. Literaturangaben

5.1 Eigene Publikationen zur kumulativen Habilitationsschrift

Hartwig S, Schwarz M, Nadulski T, Kienast T, Pragst F (2010)
Nachweis von chronischem Alkoholmissbrauch - Eignung von
Fettsäureethylestern im Sebum. Rechtsmedizin 20(4):251–257
<http://dx.doi.org/10.1007/s00194-010-0688-y>

Hastedt M, Herre S, Pragst F, Rothe M, Hartwig S (2012)
Workplace Alcohol Testing Program by Combined Use of Ethyl Glucuronide and
Fatty Acid Ethyl Esters in Hair. Alcohol Alcohol. 47(2):127-32
<http://dx.doi.org/10.1093/alcalc/agr148>

Hastedt M, Krumbiegel F, Gapert R, Tsokos M, Hartwig S (2013)
Fatty acid ethyl esters (FAEEs) as marker for alcohol in meconium: method
validation and implementation of a screening program for prenatal drug
exposure. Forensic Sci Med Pathol. 9(3):287-95
<http://dx.doi.org/10.1007/s12024-012-9385-3>

Hastedt, M, Bossers L, Krumbiegel F, Herre S, Hartwig S (2013)
Fatty acid ethyl esters in hair as alcohol marker: Estimating a reliable cut-off by
evaluation of 1057 autopsy cases. Forensic Sci Med Pathol. 9(2):184-93
<http://dx.doi.org/10.1007/s12024-013-9425-7>

Hastedt M, Büchner M, Rothe M, Gapert R, Krumbiegel F, Tsokos M, Kienast
T, Heinz A, Hartwig S (2013)
Detecting alcohol abuse: comparison between traditional alcohol markers from
blood and ethyl glucuronide and fatty acid ethyl esters as alcohol markers in
hair. Forensic Sci Med Pathol. Forensic Sci Med Pathol. 9(4):471-7
<http://dx.doi.org/10.1007/s12024-013-9416-8>

5.2 Literatur

- [1] Kraus L et al. (2014) "Kurzbericht Epidemiologischer Suchtsurvey Tabellenband: Trends der Prävalenz des Alkoholkonsums, episodischen Rausch-trinkens und alkoholbezogener Störungen nach Geschlecht und Alter." www.ift.de/fileadmin/literaturliste/ESA_2012_Alkohol-Kurzbericht.pdf
- [2] Simon R; Tauscher M, Gessler A (1997): Suchtbericht Deutschland 1997. Schneider-Verlag, Hohengehren
- [3] Drogen-und Suchtbericht 2014. www.drogenbeauftragte.de
- [4] Polizeiliche Kriminalstatistik 2013 Bundeskriminalamt, Wiesbaden
- [5] Fichter M M, Weyerer S; Kellnar S, Dilling H (1986) Zur Epidemiologie des Alkoholismus. *Med Welt.* 37:752-757
- [6] Statistisches Bundesamt Wiesbaden (2014) Unfälle unter dem Einfluss von Alkohol oder anderen berauschenden Mitteln im Straßenverkehr. (www.destatis.de)
- [7] Riede, U-N, Schaefer H-E (1993) Allgemeine und spezielle Pathologie. Thieme-Verlag, Stuttgart
- [8] Hans-Ludwig Spohr (2013) Das Fetale Alkoholsyndrom - Im Kindes- und Erwachsenenalter. Walter de Gruyter Verlag Berlin
- [9] Richtlinien zur Bestimmung der Blutalkoholkonzentration (BAK) für forensische Zwecke. (2011) *Blutalkohol* 48(1-6):137-143
- [10] Richtlinie der GTFCh zur Qualitätssicherung bei forensisch-toxikologischen Untersuchungen. (2009) *Toxichem Krimtech* 76(3):142-176
- [11] Penning R (2006) Rechtsmedizin systematisch. Uni-Med-Verlag Bremen

[12] Schwerd W (1989) Gerichtliche Medizin und Kriminalistik. Z Rechtsmed. 102:423

[13] Wirth I, Strauch H (2006) Rechtsmedizin – Grundwissen für die Ermittlungspraxis. Kriminalistik Verlag Heidelberg S. 1-4

[14] Henke A (1812) Lehrbuch der gerichtlichen Medicin. Zum Behuf akademischer Vorlesungen und zum Gebrauch für gerichtliche Ärzte und Rechtsgelehrte. Hitzig Verlag Berlin

[15] Lewin L (1897) Lehrbuch der Toxikologie. Urban und Schwarzenberg Leipzig

[16] Madea B, Mußhoff F, Berghaus G (2012) Verkehrsmedizin. 2. Aufl. Deutscher Arzte-Verlag Köln

[17] Doyle K M, Cluette-Brown J E, Dube D M, Bernhardt T G, Morse C R, Laposata M (1996) Fatty acid ethyl esters in the blood as markers for ethanol intake. JAMA 276(14):1152-1156

[18] Salem R O, Refaai M A, Cluette-Brown J E, Russo J W, Laposata M (2001) Fatty acid ethyl esters in liver and adipose tissues as postmortem markers for ethanol intake. Clin Chem. 47(4):722-725

[19] Pragst F, Spiegel K, Sporkert F, Bohnenkamp M (2000) Are there possibilities for the detection of chronically elevated alcohol consumption by hair analysis? A report about the state of investigation. Forensic Sci Int. 107(1-3):201-223

[20] Auwärter V, Sporkert F, Hartwig S, Pragst F, Vater H, Diefenbacher A (2001) Fatty acid ethyl esters in hair as markers of alcohol consumption. Segmental hair analysis of alcoholics, social drinkers, and teetotallers. Clin Chem. 47(12):2114-2123

- [21] Hartwig S, Auwärter V, Pragst F (2003) Effect of hair care and hair cosmetics on the concentrations of fatty acid ethyl esters in hair as markers of chronically elevated alcohol consumption. *Forensic Sci Int.* 131(2-3):90-97
- [22] Hartwig S, Auwärter V, Pragst F (2003) Fatty Acid ethyl esters in scalp, pubic, axillary, beard and body hair as markers for alcohol misuse. *Alcohol Alcohol.* 38(2):163-167
- [23] Pragst F, Auwärter V, Sporkert F, Spiegel K (2001) Analysis of fatty acid ethyl esters in hair as possible markers of chronically elevated alcohol consumption by headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). *Forensic Sci Int.* 121(1-2):76-88
- [24] Schmitt G; Aderjan R, Keller T, Wu M (1995): Ethyl glucuronide: an unusual ethanol metabolite in humans. Synthesis, analytical data, and determination in serum and urine. *J Anal Toxicol.* 19(2):91-94
- [25] Schmitt G, Droenner P, Skopp G, Aderjan R (1997) Ethyl glucuronide concentration in serum of human volunteers, teetotalers, and suspected drinking drivers. *J Forensic Sci.* 42(6):1099-1102
- [26] Skopp G, Schmitt G, Potsch L, Droenner P, Aderjan R, Mattern R (2000) Ethyl glucuronide in human hair. *Alcohol Alcohol.* 35(3):283-285
- [27] Seidl S, Wurst F M, Alt A (2001) Ethyl glucuronide-a biological marker for recent alcohol consumption. *Addict Biol.* 6(3):205-212
- [28] Wurst F M, Kempter C, Metzger J, Seidl S, Alt A (2000) Ethyl glucuronide: a marker of recent alcohol consumption with clinical and forensic implications. *Alcohol* 20(2):111-116
- [29] Wurst F M, Kempter C, Seidl S, Alt A (1999) Ethyl glucuronide--a marker of alcohol consumption and a relapse marker with clinical and forensic implications. *Alcohol Alcohol.* 34(1):71-77

- [30] Lamoureux F, Gaulier J M, Sauvage F L, Merceroles M, Vallejo C, Lachatre G. (2009) Determination of ethyl-glucuronide in hair for heavy drinking detection using liquid chromatography-tandem mass spectrometry following solid-phase extraction. *Anal Bioanal Chem.* 394(7):1895-1901
- [31] Tarcomnicu I, van Nuijs A L, Aerts K, De Doncker M, Covaci A, Neels H. (2010) Ethyl glucuronide determination in meconium and hair by hydrophilic interaction liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Forensic Sci Int.* 196(1-3):121-127
- [32] Boscolo-Berto R, Viel G, Montisci M, Terranova C, Favretto D, Ferrara S D (2012) Ethyl glucuronide concentration in hair for detecting heavy drinking and/or abstinence: a meta-analysis. *Int J Legal Med.* 127(3):611-9
- [33] Liniger B, Nguyen A, Friedrich-Koch A, Yegles M (2010) Abstinence monitoring of suspected drinking drivers: ethyl glucuronide in hair versus CDT. *Traffic Inj Prev.* 11(2):123-126
- [34] Hoiseth G, Morini L, Poletini A, Christophersen A, Morland J (2009) Ethyl glucuronide in hair compared with traditional alcohol biomarkers--a pilot study of heavy drinkers referred to an alcohol detoxification unit. *Alcohol Clin Exp Res.* 33(5):812-816
- [35] Lees R, Kingston R, Williams T M, Henderson G, Lingford-Hughes A, Hickman M (2012) Comparison of ethyl glucuronide in hair with self-reported alcohol consumption. *Alcohol Alcohol.* 47(3):267-272
- [36] Suesse S, Pragst F, Mieczkowski T, Selavka C M, Elian A, Sachs H, Hastedt M, Rothe M, Campbell J (2012) 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.* 218(1-3):82-91

- [37] Wurst F M, Alexson S, Wolfersdorf M, Bechtel G, Forster S, Alling C, Aradottir S, Jachau K, Huber P, Allen JP, Auwärter V, Pragst F 2004 Concentration of fatty acid ethyl esters in hair of alcoholics: comparison to other biological state markers and self reported-ethanol intake. *Alcohol Alcohol.* 39(1):33-38
- [38] Morini L, Varango C, Filippi C, Rusca C, Danesino P, Cheli F, Fusini M, Iannello G, Groppi A (2011) Chronic excessive alcohol consumption diagnosis: comparison between traditional biomarkers and ethyl glucuronide in hair, a study on a real population. *Ther Drug Monit.* 33(5):654-657
- [39] Kharbouche H, Faouzi M, Sanchez N, Daeppe J B, Augsburg M, Mangin P, Staub C, Sporkert F (2012) Diagnostic performance of ethyl glucuronide in hair for the investigation of alcohol drinking behavior: a comparison with traditional biomarkers. *Int J Legal Med.* 126(2):243-250
- [40] Schubert W, Dittmann V, Brenner-Hartmann J (2013) Beurteilungskriterien - Urteilsbildung in der Fahreignungsbegutachtung. Kirschbaum Verlag Bonn.
- [41] Bundesanstalt für Straßenwesen - BASt (2014). Begutachtungsleitlinien zur Kraftfahrereignung, Heft M 115, Mensch und Sicherheit. Schünemann Verlag Bremen
- [42] Roine R, Salaspuro M (1995) Marker für Alkoholismus und alkoholassoziierte Organschäden. in Seitz H. K, Lieber C S, Simanowski U A Handbuch Alkohol, Alkoholismus, Alkoholbedingte Organschäden. Barth-Verlag, Leipzig S. 93-120
- [43] Agarwal D P (1995) Biologische/genetische Marker des Alkoholismus. in Soyka M Biologische Alkoholismuskriterien, Chapman & Hall, Weinheim London
- [44] Lange L G, Bergmann S R, Sobel B E (1981) Identification of fatty acid ethyl esters as products of rabbit myocardial ethanol metabolism. *J Biol Chem.* 256(24):12968-12973

- [45] Laposata E A, Lange L G (1986) Presence of nonoxidative ethanol metabolism in human organs commonly damaged by ethanol abuse. *Science* 231(47):497-499
- [46] Laposata E A, Scherrer D E, Lange L G (1989) Fatty acid ethyl esters in adipose tissue. A laboratory marker for alcohol-related death. *Arch Pathol Lab Med.* 113(7):762-766
- [47] Laposata M, Szczepiorkowski Z M, Brown J E (1995) Fatty acid ethyl esters: non-oxidative metabolites of ethanol. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 52(2-3):87-91
- [48] Laposata M (1998) Fatty acid ethyl esters: ethanol metabolites which mediate ethanol-induced organ damage and serve as markers of ethanol intake. *Prog Lipid Res.* 37(5):307-316
- [49] Laposata M (1999) Fatty acid ethyl esters: nonoxidative ethanol metabolites with emerging biological and clinical significance. *Lipids.* 34:S281-S285
- [50] Laposata M, Hasaba A, Best C A, Yoerger D M, McQuillan B M, Salem R O, Refaai M A, Soderberg B L (2002) Fatty acid ethyl esters: recent observations. *Prostaglandins Leukot.Essent.Fatty Acids.* 67(2-3):193-196
- [51] De Jersey J, Treloar T (1994) Biosynthesis and possible pathological significance of fatty acid ethyl esters. *Alcohol Alcohol Suppl.* 2:171-176
- [52] Aderjan R (2000) *Marker missbräuchlichen Alkoholkonsums.* Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart
- [53] Musshoff F, Daldrup T (1998) Determination of biological markers of alcohol abuse. *J Chromatogr.* 713(1):245-264

[54] Pragst F, Yegles M (2008) Determination of fatty acid ethyl esters (FAEE) and ethyl glucuronide (EtG) in hair: a promising way for retrospective detection of alcohol abuse during pregnancy? *Ther Drug Monit.* 30(2):255-263

[55] Hartwig S Dissertation (2004) Fettsäureethylester als Alkoholmarker im Haar von Abstinenzlern, Normaltrinkern und Todesfällen mit Alkoholanamnese sowie Einflüsse von kosmetischer Haarbehandlung. Med. Fakultät Charité, Humboldt Universität Berlin

[56] Auwärter V Dissertation (2006) Fettsäureethylester als Marker exzessiven Alkoholkonsums - Analytische Bestimmung im Haar und in Hautoberflächenlipiden mittels Headspace-Festphasenmikroextraktion und Gaschromatographie-Massenspektrometrie. Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät der Humboldt-Universität zu Berlin

[57] Kintz P. (2010) 2009 consensus of the Society of Hair Testing on hair testing for chronic excessive alcohol consumption. *Forensic Sci Int.* 196(1-3):2

[58] Kintz P (2012) 2011 consensus of the Society of Hair Testing on hair testing for chronic excessive alcohol consumption. *Forensic Sci Int.* 218(1-3):2

[59] Hastedt M Dissertation (2013) Fettsäureethylester und Ethylglucuronid als Marker eines chronisch erhöhten Alkoholkonsums. Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie der Freien Universität Berlin

[60] Kamil I A, Smith J N, und Williams, R T (1952) A new aspect of ethanol metabolism: isolation of ethylglucuronide. *Biochem J.* 51:32-33

[61] Droenner P, Schmitt G, Aderjan R, Zimmer H (2002) A kinetic model describing the pharmacokinetics of ethyl glucuronide in humans. *Forensic Sci Int.* 126(1):24-29

[62] Sachs H (1997) Drogennachweis in Haaren. in Kijewski H Proceedings of the Symposium "Das Haar als Spur - Spur der Haare" 24. November 1993 in Göttingen. Schmidt-Römhild, Lübeck S. 119-133

[63] Bakdash A, Burger P, Goecke T W, Fasching PA, Reulbach U, Bleich S, Hastedt M, Rothe M, Beckmann M W, Pragst F, Kornhuber J. (2010) Quantification of fatty acid ethyl esters (FAEE) an ethyl glucuronide (EtG) in meconium from newborns für detection of alcohol abuse in a maternal health evaluation study. *Anal Bioanal Chem.* 396(7):2469-77

[64] Albermann M E, Musshoff F, Madea B (2010) A fully validated high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the determination of ethyl glucuronide in hair for the proof of strict alcohol abstinence. *Anal Bioanal Chem.* 396(7):2441-2447

[65] Agius R, Nadulski T, Kahl H G, Schrader J, Dufaux B, Yegles M, Pragst F (2010) Validation of a headspace solid-phase microextraction-GC-MS/MS for the determination of ethyl glucuronide in hair according to forensic guidelines. *Forensic Sci Int.* 196(1-3):3-9

[66] Janda I, Weinmann W, Kuehnle T, Lahode M, Alt A (2002) Determination of ethyl glucuronide in human hair by SPE and LC-MS/MS. *Forensic Sci Int.* 128(1-2):59-65

[67] Yegles M, Labarthe A, Auwärter V, Hartwig S., Vater H, Wennig R, Pragst F (2004) Comparison of ethyl glucuronide an fatty acid ethyl ester concentrations in hair of alcoholics, social drinkers and teetotallers. *Forensic Sci Int.* 145(2-3):167-173

[68] Pragst F, Balikova M A (2006) State of the art in hair analysis for detection of drug and alcohol abuse. *Clin Chim Acta.* 370(1-2):17-49

[69] Goecke TW, Burger P, Fasching PA, Bakdash A, Engel A, Häberle L, Voigt F, Faschingbauer F, Raabe E, Maass N, Rothe M, Beckmann MW, Pragst F,

Kornhuber J. (2014) Meconium indicators of maternal alcohol abuse during pregnancy and association with patient characteristics. *Biomed Res Int.* 2014:702848

[70] Lange S, Shield K, Koren G, Rehm J, Popova S (2014) A comparison of the prevalence of prenatal alcohol exposure obtained via maternal self-reports versus meconium testing: a systematic literature review and meta-analysis. *BMC Pregnancy Childbirth.* 14:127

[71] Baña A, Tabernero M J, Pérez-Muñuzuri A, López-Suárez O, Dosil S, Cabarcos P, Bermejo A, Fraga J- M, Couce M L (2014) Prenatal alcohol exposure and its repercussion on newborns. *J Neonatal Perinatal Med.* 7(1):47-54

[72] Himes S K, Concheiro M, Scheidweiler K B, Huestis M A (2014) Validation of a novel method to identify in utero ethanol exposure: simultaneous meconium extraction of fatty acid ethyl esters, ethyl glucuronide, and ethyl sulfate followed by LC-MS/MS quantification. *Anal Bioanal Chem.* 406(7):1945-55

[73] Cabarcos P, Tabernero M J, Otero J L, Míguez M, Bermejo A M, Martello S, De Giovanni N, Chiarotti M (2014) Quantification of fatty acid ethyl esters (FAEE) and ethyl glucuronide (EtG) in meconium for detection of alcohol abuse during pregnancy: Correlation study between both biomarkers. *J Pharm Biomed Anal.* 100:74-8

[74] Morini L, Marchei E, Tarani L, Trivelli M, Rapisardi G, Elicio M R, Ramis J, Garcia-Algar O, Memo L, Pacifici R, Groppi A, Danesino P, Pichini S (2013) Testing ethylglucuronide in maternal hair and nails for the assessment of fetal exposure to alcohol: comparison with meconium testing. *Ther Drug Monit.* 35(3):402-7

[75] Joya X, Marchei E, Salat-Batlle J, García-Algar O, Calvaresi V, Pacifici R, Pichini S (2015) Fetal exposure to ethanol: relationship between ethyl

glucuronide in maternal hair during pregnancy and ethyl glucuronide in neonatal meconium. *Clin Chem Lab Med.* 54(3):427-35

[76] Himes S K, Dukes K A, Tripp T, Petersen J M, Raffo C, Burd L, Odendaal H, Elliott AJ, Hereld D, Signore C, Willinger M, Huestis M A (2015) Clinical sensitivity and specificity of meconium fatty acid ethyl ester, ethyl glucuronide, and ethyl sulfate for detecting maternal drinking during pregnancy. *Prenatal Alcohol in SIDS and Stillbirth (PASS) Network. Clin Chem.* 61(3):523-32

[77] Boscolo-Berto R, Favretto D, Cecchetto G, Vincenti M, Kronstrand R, Ferrara SD, Viel G (2014) Sensitivity and specificity of EtG in hair as a marker of chronic excessive drinking: pooled analysis of raw data and meta-analysis of diagnostic accuracy studies. *Ther Drug Monit.* 36(5):560-75

[78] Kintz P 2014 consensus for the use of alcohol markers in hair for assessment of both abstinence and chronic excessive alcohol consumption. *Forensic Sci Int.* 249:A1-2

[79] Kintz P, Nicholson D (2014) Testing for ethanol markers in hair: discrepancies after simultaneous quantification of ethyl glucuronide and fatty acid ethyl esters. *Forensic Sci Int.* 243:44-6

[80] Thierauf-Emberger A, Franz A, Auwärter V, Huppertz L M (2015) Detection of the ethanol consumption markers ethyl glucuronide and ethyl sulfate in urine samples from inmates of two German prisons. *Int J Legal Med.* 130(2):387-91

[81] Crunelle C L, Yegles M, van Nuijs A L, Covaci A, De Doncker M, Maudens K E, Sabbe B, Dom G, Lambert W E, Michielsen P, Neels H (2013) Hair ethyl glucuronide levels as a marker for alcohol use and abuse: a review of the current state of the art. *Drug Alcohol Depend.* 134:1-11

[82] Crunelle C L, Cappelle D, Covaci A, van Nuijs A L, Maudens K E, Sabbe B, Dom G, Michielsen P, Yegles M, Neels H (2014) Hair ethyl glucuronide as a

biomarker of alcohol consumption in alcohol-dependent patients: role of gender differences. *Drug Alcohol Depend.* 141:163-6

[83] Gareri J, Rao C, Koren G (2015) Examination of sex differences in fatty acid ethyl ester and ethyl glucuronide hair analysis. *Drug Test Anal. Suppl* 1:30-6

[84] Cabarcos P, Álvarez I, Tabernero M J, Bermejo A M (2015) Determination of direct alcohol markers: a review. *Anal Bioanal Chem.* 407(17):4907-25

[85] Dom G, Wojnar M, Crunelle C L, Thon N, Bobes J, Preuss U W, Addolorato G, Seitz H K, Wurst F M (2015) Assessing and treating alcohol relapse risk in liver transplantation candidates. *Alcohol Alcohol.* 50(2):164-72

[86] Neels H, Yegles M, Dom G, Covaci A, Crunelle C L (2014) Combining serum carbohydrate-deficient transferrin and hair ethyl glucuronide to provide optimal information on alcohol use. *Clin Chem.* 60(10):1347-8

[87] Suesse S, Bluemel M, Pragst F (2015) Effect of the analyzed hair length on fatty acid ethyl ester (FAEE) concentrations in hair--is there congruence of cut-offs for 0-3 and 0-6 cm hair segments? *Forensic Sci Int.* 249:1-5

[88] Martins Ferreira L, Binz T, Yegles M (2012) The influence of ethanol containing cosmetics on ethyl glucuronide concentration in hair. *Forensic Sci Int.* 218(1-3):123-5

[89] Albermann M E, Madea B, Musshoff F (2014) A SPME-GC/MS procedure for the determination of fatty acid ethyl esters in hair for confirmation of abstinence test results. *J Chromatogr Sci.* 52(9):955-60

[90] Schröder J., Rothe M, Pragst F (2012) Ethyl glucuronide concentrations in beard hair after a single alcohol dose: evidence for incorporation in hair root. *Int J Legal Med.* 126(5):791-99

[91] Pragst F, Rothe M, Moench B, Hastedt M, Herre S, Simmert D (2010) Combined use of fatty acid ethyl esters and ethyl glucuronide in hair for diagnosis of alcohol abuse: interpretation and advantages. *Forensic Sci Int.* 196(1-3):101-10

[92] Pragst F, Auwärter V, Kiessling B, Dyes C. (2004) Wipe-test and patch-test for alcohol misuse based on the concentration ratio of fatty acid ethyl esters and squalene CFAEE/CSQ in skin surface lipids. *Forensic Sci Int.* 143(2-3):77-86

[93] Crunelle C L, Cappelle D, Yegles M, De Doncker M, Michielsen P, Dom G, van Nuijs A L, Maudens KE, Covaci A, Neels H (2015) Ethyl glucuronide concentrations in hair: a controlled alcohol-dosing study in healthy volunteers. *Anal Bioanal Chem.* 408(8):2019-25

[94] Crunelle C L, Yegles M, De Doncker M, Dom G, Cappelle D, Maudens K E, van Nuijs AL, Covaci A, Neels H (2015) Influence of repeated permanent coloring and bleaching on ethyl glucuronide concentrations in hair from alcohol-dependent patients. *Forensic Sci Int.* 247:18-22

[95] Binz T M, Baumgartner M R, Kraemer T (2014) The influence of cleansing shampoos on ethyl glucuronide concentration in hair analyzed with an optimized and validated LC-MS/MS method. *Forensic Sci Int.* 244:20-4

[96] Bundesärztekammer (2015) Richtlinien zur Organtransplantation gem. § 16 TPG. *Dtsch Arztebl* 112(31-32):A1-A17

[97] EWDTs (2014) European Guidelines for Workplace Drug and Alcohol Testing in Hair. <http://www.ewdts.org/data/uploads/documents/ewdts-guideline-hair-v2.0.pdf>

[98] Schwarz M, Hartwig S, Nadulski T, Kienast T, Pragst F (2007) Pflastertest für Fettsäureethylester (FSEE) in Hautoberflächenlipiden als Alkoholmarker. Vergleich mit Trinkangaben, FSEE-Konzentrationen im Haar und

konventionellen Alkoholmarkern. Tagungsband zum XV. GTFCh–Symposium,
18.–21.04.2007 in Mosbach S.384-392

Danksagungen

Prof. Dr. med. Michael Tsokos danke ich für die Möglichkeit, meine wissenschaftlichen Projekte am Institut für Rechtsmedizin der Charité durchführen zu können.

Den Wissenschaftlern, Doktoranden und Praktikanten unserer Berliner Forschungsgruppe danke ich für die mehr als 15 Jahre währende, fruchtbare Zusammenarbeit, ohne die die kontinuierliche Bearbeitung der forensisch-toxikologischen Problemstellungen und Forschungen zu den direkten Alkoholmarkern nicht möglich gewesen wäre. Neben den langjährigen, ehemaligen Leitern der Abteilung für forensische Toxikologie Herr Prof. Dr. rer. nat. Dr. h.c. Fritz Pragst und Frau Dr. rer. nat. Sieglinde Herre seien Herr Dr. rer. nat. Thomas Nadulski, Frau Mara Büchner, Frau Dr. med. Lena Eckes, Frau Franziska Krumbiegel und Herr Markus Schwarz besonders genannt.

Für seine Unterstützung bei der Erstellung internationaler Publikationen danke ich Herrn Dr. René Gapert.

Herrn Dr. rer. nat. Martin Hastedt danke ich besonders für seine kompetente Beratung in allen Fragen der forensischen Toxikologie, die gemeinsame Arbeit an den Forschungsprojekten, die gemeinsame Erstellung der Publikationen und anregende fachliche Diskussionen.

Ich danke den technischen Assistentinnen der Abteilung für forensische Toxikologie des Instituts für Rechtsmedizin der Charité für die langjährige geduldige und aktive Unterstützung der Forschungen, ohne die die Arbeit an den wissenschaftlichen Projekten der Abteilung nicht möglich wäre.

Meiner Familie danke ich für die langjährige Geduld und die gebrachten Opfer.

Abschließend bedanke ich mich bei allen, die meine wissenschaftliche Arbeit behindert haben, sie haben stets Mut gemacht, weiterzumachen.

Erklärung

nach § 4 Abs. 3 (k) der Habilitationsordnung der Medizinischen Fakultät Charité –
Universitätsmedizin Berlin

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

Datum

Dr. Sven Hartwig