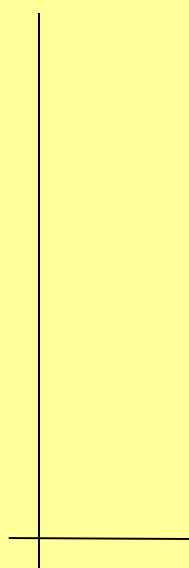




Mitteilungsblatt der Gesellschaft für

Toxikologische und Forensische Chemie



EtG/EtS-Ratio im Urin
„Nicht geringe Menge“ – Tryptamine
Cannabinoide – NCs, PNCs, NNCs, FSCs

Überlegungen zur Festlegung eines Erwartungsbereichs für die EtG/EtS-Ratio in Urinproben

Jasna Neumann und Michael Böttcher

MVZ Medizinische Labore Dessau Kassel GmbH, Dessau-Roßlau

1. Einleitung

Zur Überprüfung von Alkoholabstinenz kommt vielfach der direkte Alkoholbiomarker Ethylglucuronid (EtG) im Urin zur Anwendung. Im Rahmen unserer klinischen Routineanalytik führen wir viele entsprechende Screening- und Bestätigungsanalysen für Fremdlabore, Ärzte, Krankenhäuser oder andere Gesundheitseinrichtungen durch. Hierbei analysieren wir EtG und Ethylsulfat (EtS). Allerdings können EtG und/oder EtS auch in Getränken oder Hygieneprodukten enthalten sein [1-6]. EtG kann zudem einerseits bei Bakteriurie abgebaut werden und andererseits im seltenen Fall einer Glucosurie bei gleichzeitiger Hefebesiedlung aus Glucose (Diabetiker!) gebildet werden (s. u.). Die Einbeziehung von EtS, das unempfindlich gegen bakteriellen Abbau sein soll [7,8], kann daher die Aussagekraft der EtG-Bestimmung erhöhen und ist aus diesem Grund vorzuziehen [1,2,4,9]. In der LC-MS/MS Analytik werden deshalb gewöhnlich beide Ethanolabbauprodukte parallel bestimmt. Nach unserer Erfahrung kann im überwiegenden Teil der EtG-positiven Proben auch EtS nachgewiesen werden. In einem kleineren Teil der Proben ergeben sich allerdings „Auffälligkeiten“, indem EtG oder EtS nicht oder in ungewöhnlichen Mengenverhältnissen nachweisbar sind, das heißt, dass EtG/EtS-Konzentrationsverhältnis ist atypisch. Wir demonstrieren dies einleitend an folgendem Fallbeispiel:

Ein ca. 60-jähriger männlicher Proband hatte im Zeitraum von ca. acht Wochen 5 Urinproben abgegeben. Diese wurden in unserem Labor auf EtG und EtS untersucht. Vier von diesen fünf Proben waren positiv für EtG, jedoch negativ für EtS (Tab. 1). Der Proband ging einer nächtlichen Arbeit nach und seine Schicht endete um 6 Uhr. Er gab an, während seiner Arbeitszeit „Kontakt zu starken Handdesinfektionsmitteln“ gehabt zu haben und dass das Einatmen von Alkoholdämpfen vermutlich die Erklärung für die positiven Analyseergebnisse für EtG wäre.

Tab. 1. EtG- und EtS-Konzentrationen von 5 Proben eines 60-jährigen Probanden. Die Proben wurden verteilt über 8 Wochen abgenommen und mit LC-MS/MS untersucht (n. a. = nicht angegeben).

Probe	Uhrzeit	Kreatinin [mg/dL]	EtG [ng/mL]	EtG korr. [ng/mg Krea]	EtS [ng/mL]
1	n.a.	338	905	268	< 25
2	n.a.	155	540	348	< 25
3	n.a.	387	1735	448	< 25
4	06:45	46	<100	-	< 25
5	08:45	266	1033	388	< 25

Diesen und weitere ähnlich gelagerte Fälle nahmen wir zum Anlass, uns genauer mit dem EtG/EtS-Konzentrationsverhältnis im Urin zu befassen und aus den uns vorliegenden Daten zu ca. 15.000 Urinanalysen einen Erwartungsbereich für die EtG/EtS-Ratio in Routineproben abzuleiten.

Folgende Einflüsse auf die EtG/EtS-Ratio sind vorstellbar und werden zum Teil in der Literatur beschrieben:

- Präanalytische „Probleme“ durch bakteriellen Befall bei einem Harnwegsinfekt: Bakterielle Glucuronidasen können EtG spalten, EtS bleibt jedoch stabil [7,8,10]. Dies kann zu einer verminderten EtG/EtS-Ratio führen, ggf. ist nur EtS in der Probe nachweisbar.
- Aufnahme von EtS aus Getränken wie zum Beispiel aus Traubensaft oder Wein [1,2] oder Kontamination der Probe durch EtS-haltige Seifen oder Shampoos bei der Probennahme. Ggf. kann die Probe auch bei der Probenaufarbeitung im Labor kontaminiert werden, wenn dort EtS-haltige Desinfektionsmittel benutzt werden [6]. Dies kann zu einer verminderten EtG/EtS-Ratio führen, ggf. ist nur EtS in der Probe nachweisbar [3,4].
- Eine erhöhte oder verminderte EtG/EtS-Ratio ist durch Enzypolymorphismen oder durch Enzyminduktionen oder Enzyminhibitionen vorstellbar.
- Bei einer In-vitro-Bildung von EtG bei unerkanntem Diabetes und gleichzeitigen Harnwegsinfekt [11] kann nur EtG aber kein EtS nachgewiesen werden.
- Hohe EtG/EtS-Ratio oder nur EtG nachweisbar, bedingt durch die Art der Alkoholaufnahme wie im Fallbeispiel beschrieben.

2. Proben und Methoden

Die Bestimmung von Ethylglucuronid und Ethylsulfat wurde mit unserer nach DIN EN ISO 17025 und DIN EN ISO 15189 akkreditierten LC-MS/MS Methode durchgeführt.

Eine Probe wurde als EtG positiv betrachtet, wenn die EtG-Konzentration über dem Cut-off von 100 ng/mL lag [12]. Für EtS kam unsere Bestimmungsgrenze von 25 ng/mL zur Anwendung. Der obere Messbereich endet für beide Analyten bei 10000 ng/mL.

In die Studie eingeschlossen wurden 14856 konsekutive klinische Urinproben mit der Anforderung auf Ethylglucuronid von 4133 Patienten. Davon waren 3214 Patienten männlich und 879 weiblich. Für 175 Proben lagen keine Patientendaten vor. Proben aus der Fahreignungsbegutachtung wurden nicht in die Studie einbezogen, da die präanalytischen Bedingungen dieser Proben gut kontrolliert und die Positivrate nur gering war. Proben, in denen nur EtG und kein EtS nachgewiesen werden konnte, wurden mit Urinteststreifen auf Glucose und Nitrit getestet um Hinweise auf einen Harnwegsinfekt zu erhalten. Mikrobiologische Diagnostik zum Nachweis einer Bakteriurie und/oder Hefeausscheidung wurde in keinem Fall durchgeführt. EtS-positive Proben die gleichzeitig EtG-negativ waren, wurden für die Studie nicht berücksichtigt.

3. Ergebnisse

Von den 14856 Urinproben waren 4992 EtG positiv (33,6 %). Hiervon lagen die Ergebnisse von 2326 Proben (46,6 % der positiven EtG Proben) für EtG sowie für EtS innerhalb des Messbereichs. Aus diesen Proben wurde die EtG/EtS-Ratio bestimmt. In 40 Proben (von 32 Patienten) war ausschließlich EtG (und kein EtS) nachweisbar. In Tabelle 2 ist die Anzahl der jeweils positiven und negativen Proben aufgeschlüsselt. EtG-negative Proben wurden für die Studie nicht herangezogen. Die mittlere EtG-Konzentration der Proben, welche zur Ermittlung der EtG/EtS-Ratio herangezogen werden konnten, lag bei 3019 ng/mL, die mittlere EtS-Konzentration bei 1116 ng/mL. Die Konzentrationen erstrecken sich für dieses Probenkollektiv über den gesamten Messbereich (Tab. 3).

Tab. 2. Verteilung von EtG- und EtS-positiven und -negativen Befunden aller eingeschlossenen Proben (n = 14856). Bei positiven Proben wurde für beide Analyte zwischen innerhalb des Messbereichs und außerhalb des Messbereichs unterschieden. EtG-negative Proben die gleichzeitig EtS-positiv waren, sind unberücksichtigt.

gesamt: n = 14856	EtS neg	EtS pos	EtS >25 ng/ml <10000 ng/ml	EtS >10000 ng/ml
EtG neg	9864			
EtG pos	40	4952	3341	1611
EtG >100 ng/ml <10000 ng/ml	40	2329	2326	3
EtG >10000 ng/ml	0	2623	1015	1608

Die mittlere EtG/EtS-Ratio lag bei 3,51 (Median 2,81), der Bereich zwischen 0,04 und 35,8. Neunzig Prozent der EtG/EtS-Ratios lagen zwischen 1,05 und 7,69 (Tab. 3).

Tab. 3. EtG- und EtS-positive Proben aus denen die Bildung einer EtG/EtS-Ratio möglich war (n = 2326).

n = 2326	EtG Konz. [ng/mL]	EtS Konz. [ng/mL]	EtG/EtS-Ratio (Massen-Ratio)	EtG/EtS-Ratio (Molares-Ratio)
Mittelwert	3019	1116	3,51	1,99
Median	2018	695	2,81	1,59
Bereich	101-9994	26-9539	0,04 – 35,8	0,02 – 20,6
5 % Perzentile	258	93	1,05	0,60
95 % Perzentile	8653	3674	7,69	4,37

Die EtG-Konzentrationen sind relativ gleichmäßig über den Messbereich verteilt, mit einer Häufung im unteren Konzentrationsbereich zwischen 100 und 2000 ng/mL. Die EtS-Konzentrationen konzentrieren sich auf Werte zwischen 25 ng/mL und 2000 ng/mL (Abb. 1).

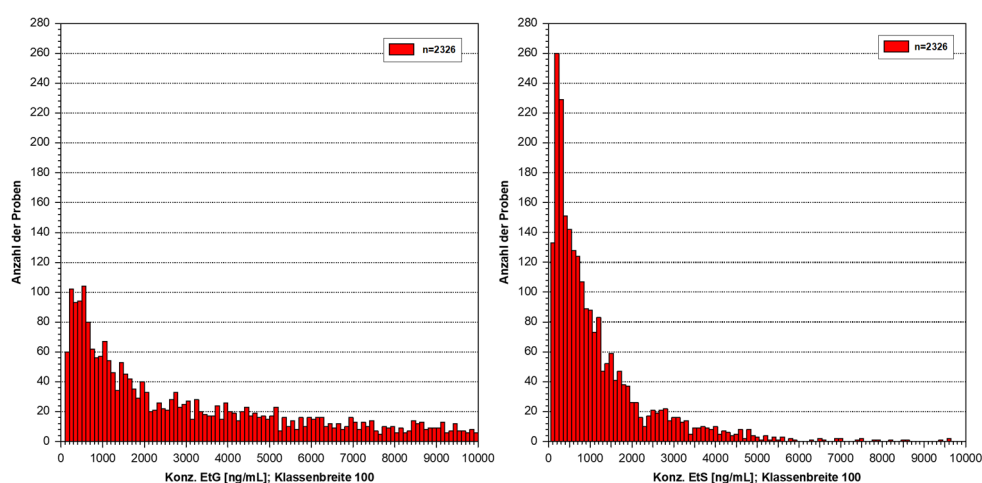


Abb. 1. links: Histogrammverteilung der Konzentrationen der EtG-positiven Proben, die zur Bildung der EtG/EtS-Ratio herangezogen wurden. rechts: Histogrammverteilung der Konzentrationen der EtS-positiven Proben, die zur Bildung der EtG/EtS-Ratio herangezogen wurden.

Als statistische Ausreißer wurden 3,3 % der Proben mit einer EtG/EtS-Ratio über 8,5 identifiziert (Abb. 2). Ausreißer mit sehr geringen EtG/EtS-Ratios lagen nicht vor, da für den Quotienten insgesamt eine rechtsschiefe Normalverteilung vorliegt (Abb. 3).

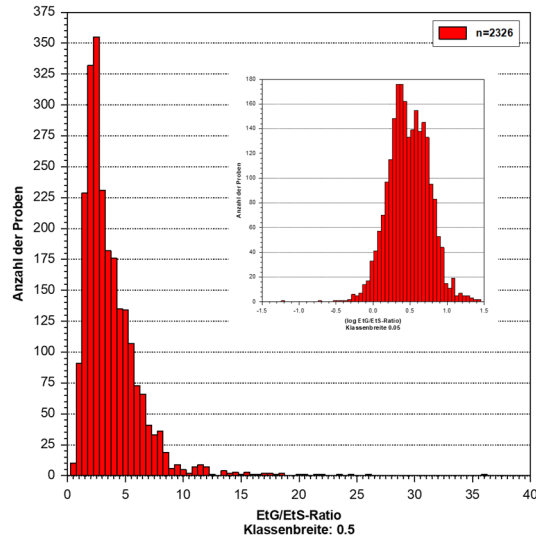
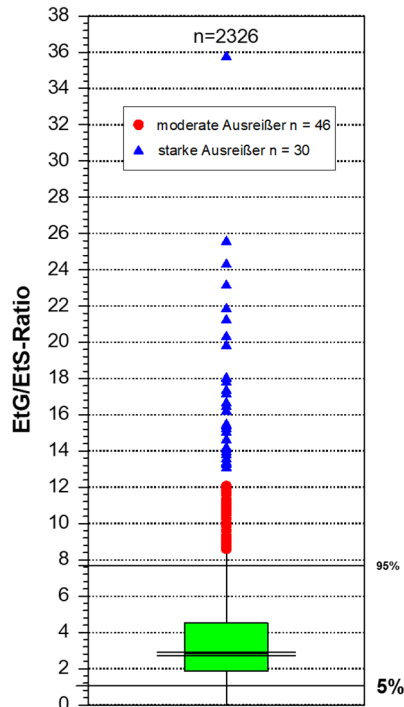
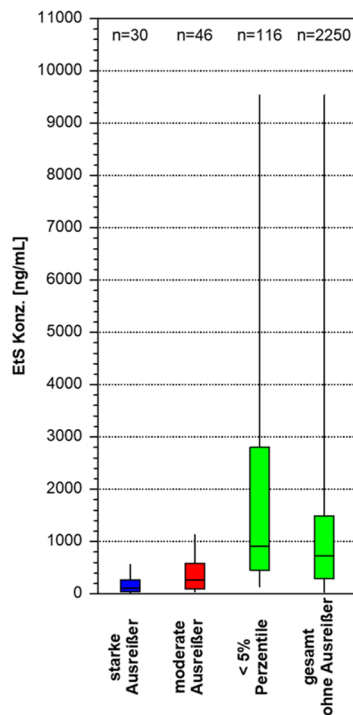
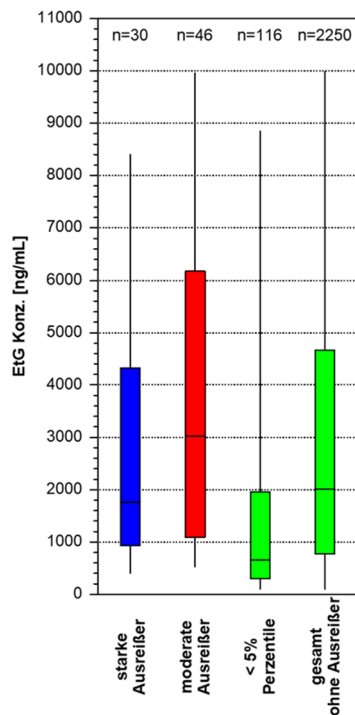


Abb. 2 (links). Verteilung der EtG/EtS-Ratios.

Abb. 3 (oben). Histogrammverteilung der EtG/EtS-Ratios (mit rechtsschiefer Normalverteilung). Eingebettet ist die Histogrammverteilung der logarithmierten EtG/EtS-Ratios.



Deshalb ist die Klassifizierung eines Wertes als statistischer Ausreißer nur bedingt möglich. Der Median der EtG-Konzentration der moderaten Ausreißer unterscheidet sich signifikant von der EtG-Konzentration der Gesamtgruppe ohne Ausreißer. Der Median der EtG-Konzentration der starken Ausreißer unterscheidet sich jedoch nicht statistisch signifikant von der EtG-Konzentration der Gesamtgruppe ohne Ausreißer. Der Median der EtS-Konzentration der Gesamtgruppe ohne Ausreißer unterscheidet sich sowohl statistisch signifikant von den moderaten als auch von den starken Ausreißern (Abb. 4).

Abb. 4. Statistische Verteilung der EtG- und EtS-Konzentrationen der Proben, die zur Bildung der EtG/EtS-Ratio herangezogen werden konnten ($n = 2326$).

Die mittlere EtG-Konzentration der 40 Proben, in denen nur EtG (aber kein EtS) nachweisbar war, lag mit 420 ng/mL (Median 259 ng/mL) deutlich niedriger, als in den Proben, in denen sowohl EtG als auch EtS nachweisbar war. Der gemessene Konzentrationsbereich dieser Proben lag zwischen 125 und 2019 ng/mL. Keine der Proben, in denen nur EtG nachweisbar war, enthielt Glucose.

4. Diskussion

Von den 2326 Proben bei denen die EtG/EtS-Ratio bestimmt werden konnte, liegt die EtG/EtS-Ratio bei 90 % der Proben zwischen 1,1 und 7,7. Dieser Bereich wird von uns daher vorläufig als „Referenzbereich“ im Sinne eines Erwartungsbereichs betrachtet.

Die deutlich geringere Anzahl von EtS-positiven Proben in höheren Konzentrationsbereichen, insbesondere über 5000 ng/mL könnte durch die hohe Zahl an Proben bedingt sein, bei denen das EtG außerhalb des Messbereichs lag und damit aus der Betrachtung (mögliche Ratio-Bildung) herausfallen.

Bei Urinproben mit einem EtG/EtS-Ratio unter 1 könnte es sinnvoll sein, den Urin auf einen Harnwegsinfekt zu prüfen. Das gilt insbesondere für Proben mit nachweisbarem EtS, bei fehlendem EtG [7]. Dies ist im ersten Schritt mit einem einfachen Urin-Tauchtest möglich, der zum Beispiel Hinweise auf Nitrit, Leukozyten oder auch Erythrozyten im Urin gibt [10]. Alternativ kann eine direkte Messung der β -Glucuronidaseaktivität in einer Probe zum Beispiel mittels p-Nitrophenol- β -D-Glucuronid oder Phenolphthaleinglucuronid durchgeführt werden [13-15]. Insbesondere bei EtG-negativen, EtS-positiven Proben geringer Konzentration ist eine externe Kontamination der Probe mit EtS aus Hygieneprodukten zu berücksichtigen [6].

Um eine stattgehabte In-vitro-Bildung von EtG auszuschließen, könnte der Urin mittels eines Urinteststreifens auf einen Harnwegsinfekt und Glucose getestet werden [11].

Grundsätzlich sind Polymorphismen der Uridindiphosphatglucuronosyl-transferase (UGT)-Isoformen bekannt [16] und als Grund für eine verminderte EtG-Bildung nicht auszuschließen. Allerdings konnte ein Einfluss des Gilbert-Syndroms, eines Polymorphismus der UGT-Isoform 1A1, der mit einer verminderten Aktivität dieses Enzyms einhergeht, auf die EtG-Bildung nicht nachgewiesen werden [17]. Insgesamt sind mehrere UGT-Isoformen an der Glucuronidierung von Ethanol beteiligt [18,19], so dass der Ausfall einer einzelnen Form kompensiert werden kann. Des Weiteren ist die Inhibition von UGT durch unterschiedliche Substanzen z. B. Kaempferol und Quercetin *in vitro* nachgewiesen [18,19]. Da Kaempferol und Quercetin in Nahrungsmitteln vorkommen, zum Beispiel der gelben Zwiebel, Grünkohl oder Lauch [20], könnte es bei einer entsprechenden Ernährung zu einer Verminderung, aber auch zu einer Erhöhung der UGT-Aktivität kommen [19,21]. Inwieweit dies im Einzelfall zu einer labor-diagnostisch relevanten Veränderung der EtG-Bildung führt, ist jedoch unseres Wissens nach noch nicht bekannt und bedarf weiterer Studien.

Auch für verschiedene Isoformen der Sulfotransferase (SULT) sind Polymorphismen bekannt [22-24]. Eine potenzielle Inhibition oder Induktion durch Nahrungsmittel wurde ebenfalls beobachtet [18,19,24]. Die klinische Relevanz und der Einfluss auf die EtG/EtS-Ratio *in vivo* ist jedoch weder für Polymorphismen der SULT-Isoformen noch für den vermehrten Gebrauch von Nahrungsmitteln mit SULT-inhibierenden Inhaltsstoffen (z. B. Quercetin) wie Tomaten, Zwiebeln oder Lauch [20] bekannt. Für die Aufklärung wären weitere Studien notwendig.

Polymorphismen oder Induktion und Inhibition der SULT- und UGT-Isoformen können, sofern keine andere Erklärung wie bakterielle Kontamination oder artifiziell vorhandenes Ethylsulfat aufgrund von Kontamination vorliegt, jedoch trotzdem eine mögliche Erklärung für den sehr

hohen Bereich der EtG/EtS-Ratio darstellen. Bei Trinkversuchen von Halter et al. [25] mit 13 Probanden ergab sich für die molare EtG/EtS-Ratio ein Bereich von 0,44 – 1,24. Aus einer Studie von Helander et al. [26] mit 32 Patienten und 297 Proben ergab sich eine mittlere molare Ratio von 2,5 mit einem Bereich von 0,21 – 7,22 und aus einer früheren Studie von Helander und Beck [27] mit 86 Proben eine mittlere molare Ratio von 2,3 mit einem Median von 1,7. Die mittlere molare EtG/EtS-Ratio in dieser Studie ist mit 1,99 (Median 1,59) also mit den Vorgängerstudien vergleichbar. Unterschiede können sich aus der Tatsache ergeben, dass in unserer Studie 2326 Proben betrachtet wurden und dass in den vorher beschriebenen Studien die präanalytischen Bedingungen der Proben gut kontrolliert waren. Eine Limitation unserer Studie ist die Tatsache, dass keine verwertbaren Informationen über die präanalytischen Bedingungen der Proben vor dem Eintreffen in unserem Labor, zum Beispiel über den Abnahmezeitpunkt, den Gesundheitszustand des Patienten, die Alkoholkonzentration in der Probe oder den Zeitpunkt des letzten Alkoholkonsums vorliegen. Andererseits spiegelt unser Patientenkollektiv die ganze Bandbreite präanalytischer Einflüsse auf die EtG-Bestimmung eines klinischen Einsendelabors wieder.

Besondere Aufmerksamkeit sollte zwei Gruppen von Proben gewidmet werden. Zum einen der Gruppe der Proben mit isoliert auftretendem positiven EtG ohne Vorhandensein von EtS in einer Konzentration, bei der EtS gemäß dem von uns ermittelten Bereich der EtG/EtS-Ratio erwartungsgemäß über der Bestimmungsgrenze hätte liegen müssen. Zu dieser Gruppe gehört auch unser eingangs genanntes Fallbeispiel. In die zweite Gruppe fallen die Proben mit einer extrem hohen EtG/EtS-Ratio wie zum Beispiel die Proben, welche als starke Ausreißer klassifiziert wurden. Für beide Gruppen könnte die Art der Alkoholaufnahme eine Rolle spielen, nämlich Inhalation. Der Proband im o. g. Fallbeispiel gibt als Grund für seine positiven EtG-Proben den Kontakt zu „starken Handdesinfektionsmitteln“ an, bei denen Ethanol inhalativ aufgenommen worden sein sollte.

In einer Studie von Skipper et al. [28] wurden bei einzelnen Studienteilnehmern EtG-Werte im Urin erreicht, die mit den Konzentrationen aus den Befunden des Fallbeispiels vergleichbar sind. In dieser Studie desinfizierten sich die Studienteilnehmer für eine Stunde alle vier Minuten mit einem ethanolhaltigen (62 %) Desinfektionsmittel die Hände. Auch in einer Studie von Geßner et al. [29] mit Personal in chirurgischer Tätigkeit und Laborpersonal wurden am Ende der Arbeitsschichten vergleichbare Werte erreicht. In beiden Studien wurde EtS jedoch nicht mitbestimmt.

In einer Studie von Arndt et al. [30], in der sich Labormitarbeiter 4 mal pro Stunde über 8 Stunden mit 3 mL eines Handdesinfektionsmittels (78,2 g 96 % (v/v) Ethanol/100 g und circa 10 % 2-Propanol) die Hände desinfizierten, konnten EtG-Konzentrationen teils deutlich > 0,5 mg/L nachgewiesen werden. Da in dieser Studie 2 Probanden nur in der Gruppe der sich Händedesinfizierenden standen, selbst aber kein Desinfiziers anwandten und dennoch EtG-Ausscheidungen von > 0,5 mg/L entwickelten, kommen Arndt et al. [30] zu dem Schluss, dass das Ethanol inhalativ aus den Desinfektionsmitteldämpfen und nicht cutan aus dem Desinfektionsmittel selbst aufgenommen wurde. In dieser Studie konnte EtS in jeder EtG positiven Urinprobe nachgewiesen werden, leider geben die Autoren keinen Hinweis auf die nachgewiesene EtS-Konzentration und die EtG/EtS-Ratio. Dieselbe Versuchsgruppe führte das gleiche Experiment mit Händedesinfektion unter einem Laborabzug durch, wobei nun keine EtG-Konzentrationen > 0,5 mg/L (klinischer Cut-off) und auch nicht > 0,1 mg/L (forensischer Cut-off) beobachtet wurden [30]. Analoge Experimente derselben Arbeitsgruppe mit rein propanolischen Desinfektionsmitteln führten zur Ausscheidung der entsprechenden Propylglucuronide im Urin und belegten damit sicher, dass Alkohole aus alkoholhaltigen Dämpfen/Nebeln inhalativ resorbiert, glucuronidiert und anschließend als Alkoholglucuronide ausgeschieden werden [31, 32, 33]. Eine Studie von Reisfield et al. [34], bei der Handdesinfektionsmittel alle 5 Minuten über 10

Stunden und eine Studie von Sundermann et al. [35], bei der an fünf aufeinander folgenden Tagen 20 mL einer alkoholhaltigen Lösung (Gesichtswasser) aufgetragen wurde, führte zu vergleichbaren maximalen EtG-Konzentrationen im Urin wie in unserem eingangs geschilderten Fall. In diesen beiden Studien ist EtS, wenn überhaupt, nur in deutlich niedrigeren Konzentrationen nachgewiesen worden, als in Studien mit peroraler Aufnahme von Ethanol. In der Studie von Reisfield et al. [34] liegt das EtG/EtS-Verhältnis in allen Proben über 9. In einem Artikel von Jones et al. [36] und einem weiteren von Mansour und El-rafeey [37] konnte ähnliches beobachtet werden. Reisfield et al. [34] führen diesen Umstand auf die im Verhältnis geringe Ethanolkonzentration im Körper und die im Verhältnis zur UGT geringere Affinität der SULT zu Ethanol als Grund an.

Eine weitere Erklärung für diese Beobachtungen ergeben sich möglicherweise aus der Verteilung von UGT- und SULT-Isoformen in den entsprechenden Geweben und der Lunge als erstem metabolisierenden Organ. Da der Respirationstrakt mit einer Vielzahl von Fremd- und Giftstoffen konfrontiert ist, befinden sich in den Epithelien bereits viele Fremdstoffe metabolisierende Enzyme [38,39]. Kurogi et al. [40] zeigten beispielsweise, dass in der Lunge die Ethanol-Sulfatierung deutlich geringer ausfiel als in der Leber und insbesondere im Dünndarm. In einer Studie von Riches et al. [41] in der unter anderem die Expressierung unterschiedlicher SULT-Isoformen im Cytosol verschiedener Gewebe bestimmt wurde, konnte in der Lunge ebenfalls eine geringe Expressierung im Vergleich zu Leber oder Dünndarm gefunden werden. Darüber hinaus war der Anteil von zwei an der Sulfatierung von Ethanol beteiligten SULT-Isoformen [42] vom Gesamtanteil der nachgewiesenen SULT-Isoformen geringer als in der Leber. Entsprechend vergleichbare Studien zur Studie von Kurogi et al. [40] für UGTs konnten wir bei unserer Recherche nicht finden, sondern lediglich allgemeinere Studien zur Expressierung von UGT-Isoformen. Allerdings wurde in einer Studie von Bond et al. [43] bei Hunden eine vergleichbare UGT-Aktivität im Respirationstrakt des Hundes wie in deren Leber bestimmt. Aus anderen Studien geht hervor, dass in der Leber eine deutlich höhere Vielfalt an UGT-Isoformen exprimiert wird, als in anderen Organen [16], wohingegen in den olfaktorischen Epithelien, sowie in den Atemwegen und besonders der Lunge UGT2A1 eine dominante Form zu sein scheint [44, 45]. Bei UGT2A1 scheint es sich um eine Isoform mit einem sehr weiten Spektrum an Substraten zu handeln [16], allerdings wurde diese unseres Wissens nach noch nicht auf die Fähigkeit, Ethanol zu metabolisieren untersucht.

Nach unserer Auffassung sind weitere Studien mit kontrollierter Inhalation von Ethanol und Messung der EtG- und EtS-Ausscheidung im Urin notwendig, um die Hypothese eines unter inhalativer Ethanolaufnahme erhöhten EtG/EtS-Ratios zu stärken.

5. Literatur

- [1] Høiseth G, Yttredal B, Karinen R, Gjerde H, Christophersen A. Levels of ethyl glucuronide and ethyl sulfate in oral fluid, blood, and urine after use of mouthwash and ingestion of nonalcoholic wine. *J Anal Toxicol.* 2010 Mar;34(2):84-8.
- [2] Musshoff F, Albersmann E, Madea B. Ethyl glucuronide and ethyl sulfate in urine after consumption of various beverages and foods--misleading results? *Int J Legal Med.* 2010 Nov;124(6):623-30.
- [3] Sporkert F, Kharbouche H, Augsburg MP, Klemm C, Baumgartner MR. Positive EtG findings in hair as a result of a cosmetic treatment. *Forensic Sci Int.* 2012 May 10;218(1-3):97-100.
- [4] Arndt T, Schröfel S, Stemmerich K. Ethyl glucuronide identified in commercial hair tonics. *Forensic Sci Int.* 2013 Sep 10;231(1-3):195-8.
- [5] Müller A, Iwersen-Bergmann S. Ethyl Glucuronide in Alcoholic Beverages. *Alcohol Alcohol.* 2018 Sep 1;53(5):532-538.

- [6] Habler K, Paal M, Happich FL, Vogeser M. Pitfall in the analysis of the alcohol biomarkers ethyl glucuronide and ethyl sulfate by laboratory-caused contamination with disinfectants. *Clin Chem Lab Med*. 2022 Dec 26;61(6):e96-e98
- [7] Baranowski S, Serr A, Thierauf A, Weinmann W, Grosse Perdekamp M, Wurst FM, Halter CC. In vitro study of bacterial degradation of ethyl glucuronide and ethyl sulphate. *Int J Legal Med*. 2008;122(5):389-93
- [8] Helander A, Dahl H. Urinary tract infection: a risk factor for false-negative urinary ethyl glucuronide but not ethyl sulfate in the detection of recent alcohol consumption. *Clin Chem*. 2005 Sep;51(9):1728-30.
- [9] Sporkert F, Sizun A, Giroud C. O16: Ethyl glucuronide in plant extracts. *Toxicologie Analytique et Clinique*, Volume 26, Issue 2, Supplement, 2014, Page S11
- [10] Bartling C, Böttcher M. Stabilitätsuntersuchungen zu Ethylglucuronid bei bakteriell kontaminierten Urinen. *Toxichem Krimtech* 2015;82(Special Issue):199-201.
- [11] Helander A, Olsson I, Dahl H. Postcollection synthesis of ethyl glucuronide by bacteria in urine may cause false identification of alcohol consumption. *Clin Chem*. 2007 Oct;53(10):1855-7.
- [12] Brenner-Hartmann J, Fastenmeier W, Graw M, Urteilsbildung in der Fahreignungsbegutachtung - Beurteilungskriterien. Kirschbaumverlag, 4. Auflage, Bonn, (2022) S. 310
- [13] Ho KJ, Ho LH. Determination of urinary beta-glucuronidase activity. Single-point versus enzyme kinetic measuring system. *Enzyme*. 1980;25(6):361-70
- [14] Adams MR, Grubb SM, Hamer A, Clifford MN. Colorimetric enumeration of *Escherichia coli* based on beta-glucuronidase activity. *Appl Environ Microbiol*. 1990 Jul;56(7):2021-4
- [15] Dunne WM Jr, Eisses JF. Evaluation of two rapid modifications of the 4-nitrophenyl-beta-D-glucopyranosiduronic acid (PGUA) assay for the identification of *Escherichia coli* from urine. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2001 Feb;39(2):117-9.
- [16] Tukey RH, Strassburg CP. Human UDP-glucuronosyltransferases: Metabolism, Expression, and Disease. *Annu Rev. Pharmacol Toxicol*. 2000; 40:581-616
- [17] Huppertz LM, Gunsilius L, Lardi C, Weinmann W, Thierauf-Emberger A. Influence of Gilbert's syndrome on the formation of ethyl glucuronide. *Int J Legal Med*. 2015 Sep;129(5):1005-10.
- [18] Schwab N, Skopp G. A preliminary investigation on the influence of flavonoids on ethyl glucuronide formation. *Toxichem Krimtech* 2013;80(Special Issue):327-331.
- [19] Stachel N, Skopp G. Formation and inhibition of ethyl glucuronide and ethyl sulfate. *Forensic Sci Int*. 2016 Aug;265:61-4.
- [20] Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr*. 2004 May;79(5):727-47.
- [21] Navarro SL, Chen Y, Li L, Li SS, Chang JL, Schwarz Y, King IB, Potter JD, Bigler J, Lampe JW. UGT1A6 and UGT2B15 polymorphisms and acetaminophen conjugation in response to a randomized, controlled diet of select fruits and vegetables. *Drug Metab Dispos*. 2011 Sep;39(9):1650-7.
- [22] Kurogi K, Rasool MI, Alherz FA, El Daibani AA, Bairam AF, Abunnaja MS, Yasuda S, Wilson LJ, Hui Y, Liu MC. SULT genetic polymorphisms: physiological, pharmacological and clinical implications. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2021 Jul;17(7):767-784.
- [23] Bardakci F, Arslan S, Bardakci S, Binatli AO, Budak M. Sulfotransferase 1A1 (SULT1A1) polymorphism and susceptibility to primary brain tumors. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2008 Jan;134(1):109-14
- [24] Chapman E, Best MD, Hanson SR, Wong CH. Sulfotransferases: structure, mechanism, biological activity, inhibition, and synthetic utility. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2004 Jul 5;43(27):3526-48. doi: 10.1002/anie.200300631. PMID: 15293241.
- [25] Halter CC, Dresen S, Auwaerter V, Wurst FM, Weinmann W. Kinetics in serum and urinary excretion of ethyl sulfate and ethyl glucuronide after medium dose ethanol intake. *Int J Legal Med* 2008;122(2):123-8.
- [26] Helander A, Böttcher M, Fehr C, Dahmen N, Beck O. Detection times for urinary ethyl glucuronide and ethyl sulfate in heavy drinkers during alcohol detoxification. *Alcohol Alcohol*. 2009 Jan-Feb;44(1):55-61.
- [27] Helander A, Beck O. Ethyl sulfate: a metabolite of ethanol in humans and a potential biomarker of acute alcohol intake. *J Anal Toxicol*. 2005 Jul-Aug;29(5):270-4.
- [28] Skipper GE, Wurst F, Weinmann W, Liepmann M. Ethanol-based hand sanitizing gel vapor causes positive alcohol marker, ethylglucuronide, and positive breathalyzer. *J Addict Med* 2009;3:1-5.
- [29] Geßner S, Below E, Wegner C, Heidecke CD, Diedrich S, Bockholdt B, Kramer A, Below H. Beeinflussung der Alkoholabstinenzkontrolle durch Händedesinfektion. *Rechtsmedizin* 2014;24:252-257.
- [30] Arndt T, Schröfel S, Güssregen B, Stemmerich K. Inhalation but not transdermal resorption of hand sanitizer ethanol causes positive ethyl glucuronide findings in urine. *Forensic Sci Int*. 2014 Apr;237:126-30.

- [31] Arndt T, Grüner J, Schröfel S, Stemmerich K. False-positive ethyl glucuronide immunoassay screening caused by a propyl alcohol-based hand sanitizer. *Forensic Sci Int.* 2012 Nov 30;223(1-3):359-63.
 - [32] Arndt T, Güssregen B, Schröfel S, Stemmerich K. Ethanolische Handdesinfektion – Fallstrick der Abstinenzkontrolle. *Toxichem Krimtech* 2013;80(3):178-182.
 - [33] Arndt T, Nöbauer S, Schröfel S, Stemmerich K. Falsch-positive EtG-Screenings durch Inhalation von iso-Propanol-Dämpfen in der Lebensmittelindustrie. *Toxichem Krimtech* 2015;82(1):25-26
 - [34] Reisfield GM, Goldberger BA, Crews BO, Pesce AJ, Wilson GR, Teitelbaum SA, Bertholf RL. Ethyl glucuronide, ethyl sulfate, and ethanol in urine after sustained exposure to an ethanol-based hand sanitizer. *J Anal Toxicol.* 2011 Mar;35(2):85-91.
 - [35] Sundermann TR, Hofmann C, Ketten A, Schmitt G, Bartel M. Ethylglucuronid-Konzentrationen in Blut und Urin nach der Anwendung von alkoholhaltigem Gesichtswasser 2021;58:367-376
 - [36] Jones TJ, Jones MR, Plate CA, Lewis D. Ethyl glucuronide and ethyl sulfate concentrations following use of ethanol containing hand sanitizer. *USDTL Research Monograph* 2006.02, 2006
 - [37] Mansour GN, El-rafeey DS. Ethyl glucuronide, ethyl sulfate and acetone as biomarkers for alcohol based hand sanitizers chronic exposure in health care workers. *Ain Shams J Forensic Med Clin Toxicol.* 2019 Jul;33:80-91
 - [38] Heydel JM, Faure P, Neiers F. Nasal odorant metabolism: enzymes, activity and function in olfaction. *Drug Metab Rev.* 2019 May;51(2):224-245.
 - [39] Oesch F, Fabian E, Landsiedel R. Xenobiotica-metabolizing enzymes in the lung of experimental animals, man and in human lung models. *Arch Toxicol.* 2019 Dec;93(12):3419-3489.
 - [40] Kurogi K, Davidson G, Mohammed YI, Williams FE, Liu MY, Sakakibara Y, Suiko M, Liu MC. Ethanol sulfation by the human cytosolic sulfotransferases: a systematic analysis. *Biol Pharm Bull.* 2012;35(12):2180-5.
 - [41] Riches Z, Stanley EL, Bloomer JC, Coughtrie MW. Quantitative evaluation of the expression and activity of five major sulfotransferases (SULTs) in human tissues: the SULT "pie". *Drug Metab Dispos.* 2009 Nov;37(11):2255-61.
 - [42] Stachel N, Skopp G. In vitro formation of ethyl glucuronide and ethyl sulfate. *Toxichem Krimtech* 2015;82(Special Issue):239-245.
 - [43] Bond JA, Harkema JR, Russell VI. Regional distribution of xenobiotic metabolizing enzymes in respiratory airways of dogs. *Drug Metab Dispos.* 1988 Jan-Feb;16(1):116-24.
 - [44] Bushey RT, Chen G, Blevins-Primeau AS, Krzeminski J, Amin S, Lazarus P. Characterization of UDP-glucuronosyltransferase 2A1 (UGT2A1) variants and their potential role in tobacco carcinogenesis. *Pharmacogenet Genomics.* 2011 Feb;21(2):55-65.
 - [45] Jedlitschky G, Cassidy AJ, Sales M, Pratt N, Burchell B. Cloning and characterization of a novel human olfactory UDP-glucuronosyltransferase. *Biochem J.* 1999 Jun 15;340:837-43.
-