

# Zur Präanalytik der PEth Bestimmung

Jasna Neumann und Michael Böttcher

Die Bestimmung von Phosphatidylethanol (PEth) zur Einschätzung des Alkoholkonsums erfolgt aufgrund von präanalytischen Überlegungen und entsprechenden Literaturempfehlungen zunehmend aus Kapillarvollblut mit unterschiedlichen Entnahme- bzw. Trägersystemen für Trockenblut. Ziel unserer Studien war es verschiedene Kapillarblutentnahmesysteme und i.v. gewonnenes EDTA-Vollblut auf eine in vitro Bildung von PEth mit und ohne Anwesenheit von Ethanol, sowie die Stabilität von PEth in i.v. gewonnenem EDTA-Vollblut zu untersuchen. Hierfür wurden 4 Kapillarblutentnahmesysteme (Mitra®, Capitainer®, Capitainer® Vanadate und Glaskapillare in Isopropanol) verglichen. Bis auf die Glaskapillare in Isopropanol zeigten alle untersuchten Kapillarblutentnahmesysteme in Anwesenheit von Alkohol eine in vitro Bildung von PEth in jeweils unterschiedlichem Ausmaß. Das Mitra® und das Capitainer®-System zeigten auch in Abwesenheit von Alkohol eine in vitro Bildung von PEth. Nach 4 Wochen bei 4°C konnte im i.v. gewonnenen EDTA-Vollblut auch in Anwesenheit von Alkohol keine in vitro Bildung von PEth beobachtet werden, darüber hinaus erwies sich PEth bei dieser Temperatur als stabil.

## Pre-analytical considerations on PEth analysis

The measurement of phosphatidylethanol (PEth) for assessing an individuals alcohol consumption is increasingly done from capillary whole blood with different collection devices or carrier systems for dried blood spots, due to pre-analytical considerations and literature recommendations. The aim of our studies was to test different capillary whole blood collection devices for the in vitro formation of PEth, with and without the presence of ethanol, as well as the stability of PEth in EDTA whole blood obtained by venous puncture. Four different capillary whole blood collection devices were tested (Mitra®, Capitainer®, Capitainer® Vanadate and glass capillary in isopropanol). Except the glass capillary in isopropanol all tested collection devices showed in vitro formation of PEth in the presence of alcohol. Even in the absence of alcohol, the Mitra® and the Capitainer® system showed an in vitro formation of PEth. If stored at 4°C i.v. EDTA whole blood containing alcohol showed no in vitro formation of PEth, even after 4 weeks. In addition PEth was found to be stable at this temperature.

doi.org/10.53184/ZVS5-2022-2

## Einleitung

Die Bestimmung des Phosphatidylethanol Hauptmolekuls PEth 16:0/18:1 (PEth) (Gnann et al. 2010; Helander und Zheng 2009) zur Einschätzung des Alkoholkonsums von Patienten beziehungsweise Klienten hat in der Arbeitsmedizin, Verkehrsmedizin, Suchtmedizin u. a. in den vergangenen Jahren stark an Bedeutung gewonnen.

Anders als alle bisher bekannten Alkoholbiomarker erlaubt die PEth-Konzentration zwischen einem riskanten („riskful drinking“; 200 ng/ml), einem moderaten („social drinking“; 20–200 ng/ml) und einem sporadischen Alkoholkonsum bzw. einer Abstinenz (<20 ng/ml) zu unterscheiden. Entsprechende Cutoffs wurden 2022 in Basel im Rahmen einer europaweiten Harmonisierung festgelegt (Luginbühl et al. 2022). In den aktuellen Beurteilungskriterien liegt der Cutoff für einen übermäßigen Alkoholkonsum wie im Rahmen der skandinavischen Harmonisierung bei 210 ng/ml (Beurtei-

lungskriterien 4. Auflage, 2022; Helander und Hansson, 2013). Damit kann PEth als sinnvolle Alternative zu dem Abstinenzmarker Ethylglucuronid (EtG) und zum CDT dem klassischen Marker für einen gewohnheitsmäßigen Alkoholkonsum angesehen werden. Die Vorteile von PEth im Vergleich zum EtG liegen in einer sehr viel längeren Eliminationshalbwertszeit von im Mittel ca. 6 Tagen für PEth 16:0/18:1 (Helander et al. 2019) und der damit sehr viel längeren Nachweisbarkeit eines Alkoholkonsums. Im Vergleich zu den klassischen indirekten Biomarkern eines gewohnheitsmäßigen Alkoholkonsums wie beispielsweise gamma-GT, MCV und CDT zeichnet sich PEth durch eine deutlich höhere diagnostische Sensitivität aus (Helander et al. 2012; Walther et al. 2015; Neumann et al. 2020). Ein positiver CDT Befund belegt einen täglichen Alkoholkonsum, andere Formen des riskanten Trinkens (Arndt 2001; Arndt 2011) werden nicht erkannt. Da es sich bei PEth um einen direkten Alkoholbiomarker handelt, der nach bisherigen Erkenntnis-

sen in Bildungs- und Eliminationskinetik keinen Störeinflüssen unterliegt, scheint auch die diagnostische Spezifität hoch zu sein (Arving et al. 2021; Neumann et al. 2020).

Im Gegensatz zum EtG wird PEth nicht in der Leber und im Gastrointestinaltrakt gebildet, sondern im Erythrozyten aus dem Phospholipid Phosphatidylcholin in Anwesenheit von Ethanol durch das Enzym Phospholipase D (Gustavsson and Alling 1987; Aradottir et al. 2004). Da diese Reaktion im Wesentlichen nur chemisch-physikalischen Regeln folgt (Massenwirkungsgesetz), kann PEth in Gegenwart von Ethanol

### ■ Dokumentation

Neumann, J.; Böttcher, M.: Zur Präanalytik der PEth Bestimmung, Z. f. Verkehrssicherheit 68, (2022) Nr. 5, S. 377–382

### ■ Schlagwörter

Phosphatidylethanol, PEth, Kapillarblut, Mitra, Capitainer, Alkohol, Stabilität

auch außerhalb des Körpers gebildet werden (Aradottir et al. 2004). Aus dieser Tatsache heraus ergab sich schon früh die Empfehlung PEth in einem sogenannten Dried Blood Spot (DBS), also einer zum Beispiel aus Kapillarblut der Fingerbeere gewonnenen Trockenblutprobe, zu bestimmen. Beim Trockenblut sind Ethanol und Wasser durch den Trocknungsprozess nach kurzer Zeit nicht mehr vorhanden, so dass eine „ex vivo und in vitro“ Bildung von PEth unmöglich wird. Kapillarblutproben sind einfach und schnell ggf. auch durch nicht medizinisches Personal zu gewinnen.

Mittlerweile sind solche Kapillarblutentnahmesysteme, auch solche mit einer akkuraten Volumenentnahme, weit verbreitet. Erste Studien zeigen, dass es auch bei diesen Entnahmesystemen in Anwesenheit von Ethanol zu einer in vitro Bildung von PEth kommen kann (Beck et al 2021).

In der vorliegenden Arbeit werden unterschiedliche Kapillarblutentnahmesysteme auf die in vitro Bildung von PEth mit und ohne Anwesenheit von Ethanol im Vollblut untersucht. Die analytische Validation ist nicht Gegenstand dieser Arbeit (vergleiche hierzu Capiou et al. 2019). Weiterhin soll die Stabilität von PEth in i.v. gewonnenem EDTA-Vollblut ermittelt werden.

## Material und Methoden

Die PEth Bestimmung fand mit unserer nach DIN EN ISO 17025 und DIN EN ISO 15189 akkreditierten LC-MS/MS Methode (Bestimmungsgrenze: 9,1 ng/ml) statt. Ethanol im Plasma wurde mit der ADH Methode auf einem Olympus AU 680 bestimmt.

### Entnahmesysteme

#### Mitra®:

Bei dem Mitra® Kapillarblutentnahmesystem (Neoteryx, Torrance, USA) handelt es sich um ein VAMS-System (Volumetric Absorptive Microsampling; Kansal et al., 2017; Delahaye et al. 2021; Denniff and Spooner 2014). Es besteht aus einem Kunststoffstäbchen, auf dem sich ein Köpfchen mit absorbierendem Material befindet, welches ein definiertes Volumen Blut aufnehmen kann. Das Mitra® ist mit unterschiedlichen nominalen Probenvolumina (10 µL, 20 µL, 30 µL) erhältlich. Das genaue Probenvolumen im Mitra® ist chargenabhängig und wird im Beipackzettel mitgeteilt. Die Abweichung

zum nominalen Probenvolumen kann über 10% betragen. Die Volumenpräzision wird vom Hersteller mit  $\leq 4\%$  angegeben (Kansal et al., 2017 „technical brief“). Die von uns eingesetzte Charge hatte ein Nominalvolumen von 20 µL und ein tatsächliches Volumen von 22,6 µL, was entsprechend bei der Messung berücksichtigt werden musste.

#### Capitainer®:

Beim Capitainer® (Capitainer® Ab, Stockholm, Schweden) handelt es sich um eine Dried Blood Spot Karte, die mittels eines eingearbeiteten Kanals einen DBS mit einem definierten Probenvolumen von 10 µL und einer Präzision von  $< 5\%$  erzeugt (Lenk et al. 2015; Beck et al. 2018; Velghe et al 2018; Spooner et al. 2018; Delahaye et al. 2021). Hierfür wird ein ausreichend großer Blutstropfen (mindestens 15 µL) auf das dafür vorgesehene Feld aufgetragen. Der Kanal befüllt sich selbstständig und gibt 10 µL Blut auf eine kleine Filterpapierscheibe ab. Zur einfacheren Handhabung am Patienten empfiehlt unser Labor eine kleine mit EDTA beschichtete Transferpipette (Minivette POCT, Sarstedt, Nürmbrecht, Deutschland) der Firma Sarstedt zu nutzen, die ein Probenvolumen von 20 µL aufnehmen kann.

Eine Variante dieses Systems ist das Capitainer® Vanadate bei dem die Filterpapierscheibe mit dem Phospholipase D Inhibitor Natriumtrioxovanadat imprägniert wurde, der die in vitro PEth-Bildung verhindern soll (Beck et al. 2021).

#### Glaskapillare in Isopropanol:

Die von uns verwendete EDTA-beschichtete Glaskapillare (Sarstedt, Nürmbrecht, Deutschland), hat ein akkurates Volumen von 20 µL (Präzision  $< 0,6\%$ ). Mittels eines kleinen Haltewerkzeugs kann die Glaskapillare zum Blutstropfen an den Finger geführt werden. Die so befüllte Kapillare wird im Anschluss in ein 1,5 ml Schraubdeckelgefäß (Sarstedt, Nürmbrecht, Deutschland) überführt in dem 240 µL Isopropanol vorgelegt wurden und im Anschluss sofort geschüttelt. Durch das Isopropanol werden alle im Blut enthaltenen Enzyme augenblicklich inaktiviert und so eine Phospholipase D vermittelte in vitro PEth Bildung verhindert.

## Studien:

### Studie 1: In vitro Bildung von PEth

Studie 1 Teil 1: In vitro PEth Bildung in unterschiedlichen Kapillarblutentnahmesystemen:

Für diesen Studienteil wurden 32 Ethanol ( $< 0,1$  g/l) und PEth ( $< 9,1$  ng/ml = LoQ) negative, taggleich gewonnene i.v. EDTA-Vollblutproben (VB) aus unserer Laborroutine verwendet.

Hiermit wurden die vier vorgestellten Kapillarblut Entnahmesysteme befüllt.

Im Anschluss wurde das VB mit Ethanol (auf 1,6 g/l) versetzt (VB-EtOH). Die Kapillarblutentnahmesysteme wurden jeweils mit einem Aliquot der 32 VB-EtOH befüllt.

Alle Kapillarblutentnahmesysteme wurden bei Raumtemperatur getrocknet bzw. im Fall der Glaskapillare in Isopropanol, aufbewahrt und am Folgetag vermessen.

Studie 1 Teil 2: In vitro PEth Bildung in drei unterschiedlichen Chargen des Capitainer® Vanadate

33 Ethanol ( $< 0,1$  g/L) und PEth ( $< 9,1$  ng/ml = LoQ) negative, taggleich gewonnene i.v. EDTA-Vollblutproben (VB) aus der Routine wurden verwendet.

Drei unterschiedliche Chargen des Capitaine Vanadate wurden jeweils mit VB befüllt.

Im Anschluss wurde das VB mit Ethanol (auf 1,6 g/l) versetzt (VB-EtOH) und die drei unterschiedlichen Chargen des Capitainer® Vanadate mit einem Aliquot der 33 VB-EtOH befüllt.

Die Capitainer® Vanadate Proben wurden am Folgetag vermessen.

Studie 1 Teil 3: In vitro Bildung von PEth in mit Ethanol versetztem i.v. gewonnenen EDTA-Vollblut bei verschiedenen Temperaturen

a) Die 32 VB-EtOH-Proben aus Studie 1 Teil 1 wurden umgehend in jeweils zwei Aliquote aufgeteilt. Ein Aliquot wurde bei Raumtemperatur und das andere Aliquot bei 4°C gelagert. Beide Aliquote wurden nach 48 Stunden vermessen.

b) Die 33 VB-EtOH Proben aus Studie 1 Teil 2 wurden für 72 Stunden bei Raumtemperatur gelagert und dann vermessen.

c) 35 Ethanol ( $< 0,1$  g/l) und PEth ( $< 9,1$  ng/ml = LoQ) negative taggleich gewonnene i. v. EDTA-Vollblutproben (VB) aus der Rou-

tine wurden in zwei Aliquote unterteilt. Ein Aliquot wurde nativ belassen und das andere hämolytisch (2 Stunden bei – 24 °C tiefgefroren). Beide Aliquote wurden im Anschluss mit Ethanol versetzt (auf 1,6 g/l) und bei 37 °C gelagert. Alle Aliquote wurden nach 48 Stunden und nach 72 Stunden vermessen. Zwischen den Messungen wurden die Aliquote wieder bei 37 °C aufbewahrt.

## Studie 2: Stabilität von PEth

Studie 2: Stabilität von Routineproben mit und ohne Ethanol über vier Wochen bei 4°C

In 529 i.v. gewonnenen EDTA-Vollblut Proben aus der Routine wurde Ethanol im Plasma bestimmt. Die Proben wurden am Tag der Ankunft im Labor (d0) und nach einer 4 wöchigen Lagerung bei 4°C (d28) auf PEth vermessen.

## Ergebnisse

Im ersten Teil der Studie 1 konnte überraschender Weise eine in vitro Bildung von PEth nicht nur in den mit VB-EtOH befüllten Kapillarblutproben beobachtet werden, sondern auch in jenen die mit negativem EDTA-Vollblut befüllt worden sind (siehe Tabelle 1). Die stärkste in vitro PEth Bildung konnte hier beim Capitainer® System ohne Phospholipase D Inhibitor beobachtet werden. Hier war in allen Proben PEth oberhalb der Bestimmungsgrenze und mit einem Mittelwert von 64,7 ng/ml auch oberhalb des Cutoffs, der eine Abstinenz belegt. Beim Mitra® System konnte in fast der Hälfte der Proben PEth oberhalb der Bestimmungsgrenze gemessen werden obwohl kein Ethanol in der Probe vorhanden war. Bei den Entnahmesystemen die mit VB-EtOH (siehe Tabelle 2) befüllt wurden nahm der prozentuale Anteil der Proben in denen PEth nachgewiesen wurde noch einmal deutlich zu. Selbst im Capitainer® Vandate konnte in 9 von 32 Proben PEth gemessen werden. Nur bei der Glaskapillare fand sich lediglich eine Probe in denen PEth auf der Bestimmungsgrenze gemessen werden konnte.

Aufgrund der überraschenden Ergebnisse der in vitro PEth Bildung wurde im zweiten Teil der Studie 1 das Capitainer® Vanadate genauer untersucht (siehe Tabelle 3). Hierbei bestätigte sich die Beobachtung aus dem ersten Studienteil. In Anwesenheit von Ethanol konnte in allen drei Chargen wieder

	Mitra	Capitainer	Capitainer Vanadate	Glaskapillare mit Isopropanol
positive Proben	14	32	1	0
Mittelwert [ng/ml]	15,1	64,7	21,1	–
Median [ng/ml]	12,0	57,6	–	–
Konz. Bereich [ng/ml]	9,8 – 29,5	26,7 – 132	–	–

Tabelle 1: Studie 1 Teil 1: PEth Konzentration in Kapillarblutentnahmesystemen die mit 32 negativen VB befüllt wurden

	Mitra	Capitainer	Capitainer Vanadate	Glaskapillare mit Isopropanol
positive Proben	26	32	9	1
Mittelwert [ng/ml]	23,3	231	29,7	9,8
Median [ng/ml]	20,8	226	28,1	–
Konz. Bereich [ng/ml]	11,2 – 84,4	66,8 – 432	18,3 – 50,6	–

Tabelle 2: Studie 1 Teil 1: PEth Konzentration in Kapillarblutentnahmesystemen die mit 32 VB-EtOH befüllt wurden

	Charge 1	Charge 2	Charge 3
positive Proben	25	24	24
Mittelwert [ng/ml]	28,9	29,9	28,9
Median [ng/ml]	26,7	25,0	25,3
Konz. Bereich [ng/ml]	20,4 – 50,6	20,4 – 59,1	20,4 – 75,9

Tabelle 3: Studie 1 Teil 2: PEth Konzentration in 3 verschiedenen Chargen von Capitainer Vanadate die mit 33 VB-EtOH befüllt wurden

	nach 48 Stunden (aus Studie 1 Teil 1) bei Raumtemperatur	nach 48 Stunden (aus Studie 1 Teil 1) bei 4°C	nach 72 Stunden (aus Studie 1 Teil 2) bei Raumtemperatur
positive Proben	31	0	33
Mittelwert [ng/ml]	15,2	–	54,2
Median [ng/ml]	14,8	–	49,2
Konz. Bereich [ng/ml]	9,1 – 26,7	–	30,9 – 111

Tabelle 4: Studie 1 Teil 3: PEth Konzentration in 32 bzw. 33 VB-EtOH nach 48 bzw. 72h Aufbewahrung

eine in vitro Bildung von PEth beobachtet werden. Der Anteil der Proben in denen diese in vitro Bildung messbar war, lag mit 24 bzw. 25 von 33 Proben deutlich höher als im ersten Teil der Studie. Die mittlere Konzentration war vergleichbar mit den Ergebnissen aus Studienteil 1. Eine chargenabhängige Bildungsrate konnte nicht beobachtet werden. Alle drei Chargen lieferten vergleichbare Ergebnisse.

Verglichen mit der in vitro Bildung von PEth in den Kapillarblutentnahmesystemen ist die in vitro Bildung von PEth im mit Ethanol versetzten i. v. Blut verhältnismäßig gering (Mittelwert 15,5 ng/ml). Nach 72 Stunden bei Raumtemperatur lag der Mittelwert mit 54,8 ng/ml deutlich höher (siehe Tabelle 4). Wie zu erwarten war konnte bei 37°C die stärkste in vitro Bildung von PEth beobachtet werden (siehe Tabelle 5). Es zeichnete

	nach 48 Stunden nicht hämolytisch	nach 48 Stunden hämolytisch	nach 72 Stunden nicht hämolytisch	nach 72 Stunden hämolytisch
positive Proben	35	35	35	35
Mittelwert [ng/ml]	198	367	242	321
Median [ng/ml]	133	262	160	188
Konz. Bereich [ng/ml]	62,6 – 1377	102 – 1576	90,0 – 1557	92,8 – 1400

Tabelle 5: Studie 1 Teil 3: PEth Konzentration in 35 VB-EtOH nach einer Aufbewahrungsdauer von 48 bzw. 72 Stunden bei 37°C von hämolytischen und nicht hämolytischen Proben

sich ein deutlicher Unterschied zwischen hämolytierten und nicht hämolytiertem Blut ab. Nach 48 Stunden bei 37°C war die mittlere PEth Konzentration in den hämolytischen Blutproben etwa doppelt so hoch wie im nicht hämolytierten Blut (367 ng/ml zu 198 ng/ml). Innerhalb der folgenden 24 Stunden stieg die PEth Konzentration in den nicht hämolytischen Proben im Mittel weiter an, sank jedoch in den hämolytischen Proben wieder ab. Insgesamt war die in vitro PEth Bildung jedoch innerhalb der unterschiedlichen Proben sehr verschieden.

Bei 4°C konnte keine in vitro Bildung von PEth beobachtet werden.

In der zweiten Studie (siehe Tabelle 6) wurde in insgesamt 529 EDTA-Vollblut

Proben aus der Routine Ethanol gemessen. 446 Proben waren negativ für Ethanol und 83 Proben positiv (0,1 – 3,1 g/l). Es wurde in allen Proben PEth an d0 und d28 bestimmt. In der Gruppe der Ethanol negativen Proben mussten 23 Ausreißer eliminiert werden. Nach Elimination der Ausreißer lag das mittlere d28/d0 Ratio im Mittel bei 0,99 mit einem VK von 12 %. Damit kann klar gesagt werden, dass PEth bei 4°C über vier Wochen stabil ist (siehe Bild 1).

In der Gruppe der Ethanol positiven Proben mussten vier der 83 Proben als Ausreißer eliminiert werden. Auch hier ergab sich ein mittleres d28/d0 Ratio von 0,97 mit einem VK von 9,6 %. Damit kann gezeigt werden dass innerhalb von vier Wochen bei 4 °C keine in vitro Bildung von PEth nachgewie-

sen werden konnte, obwohl Ethanol in der Probe anwesend war (siehe Bild 2).

## Diskussion

Die nachgewiesene in vitro Bildung von PEth in einigen Kapillarblutentnahmesystemen in Abwesenheit von Ethanol kann als relevant bezeichnet werden. Insbesondere beim Capitainer® ohne Phospholipase D Inhibitor lag die Konzentration in jeder Probe über 20 ng/ml. Somit kann es zu falsch positiven Befunden bei eigentlich abstinenten Personen kommen. Darüber hinaus müssen auch falsch hohe Ergebnisse bei PEth-positiven Individuen berücksichtigt werden.

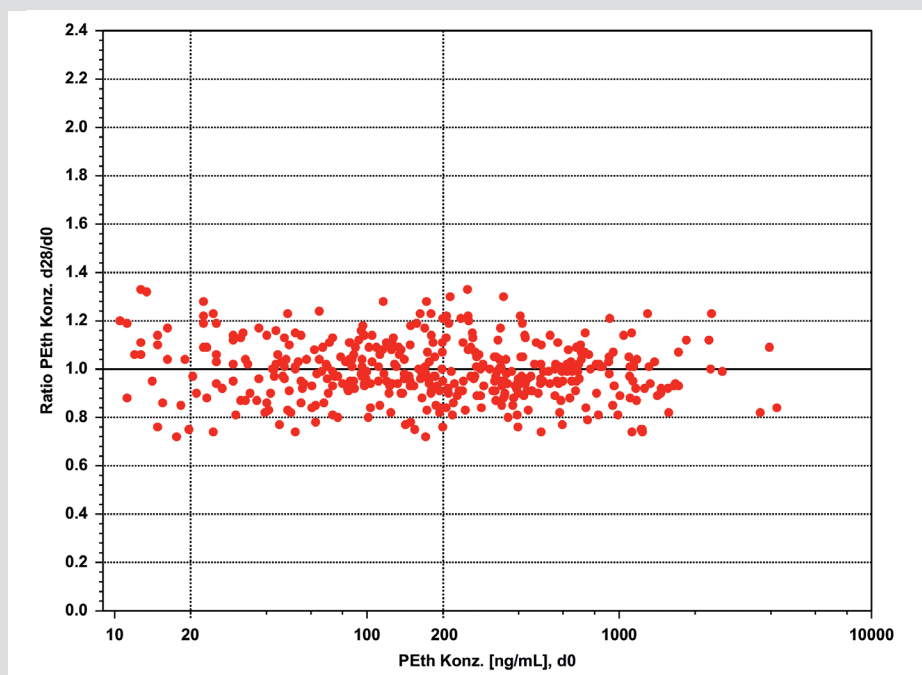


Bild 1a: Ratio der PEth Konzentrationen der Ethanol negativen Proben aus der Messung von Tag 0 und Tag 28 (PEth Konz. d28/d0) nach einer Lagerung bei 4°C gegen die PEth Konzentration von Tag 0. Die 23 statistischen Ausreißer wurden eliminiert

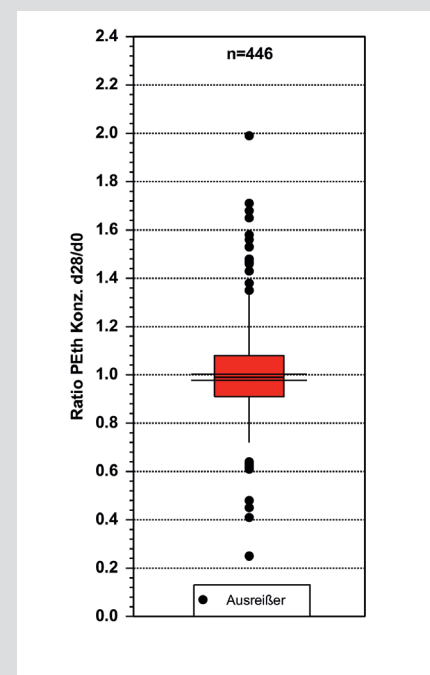


Bild 1b: Verteilung des Ratios der PEth Konzentrationen der Ethanol negativen Proben aus der Messung von Tag 0 und Tag 28 (PEth Konz. d28/d0) nach 4 wöchiger Lagerung bei 4°C



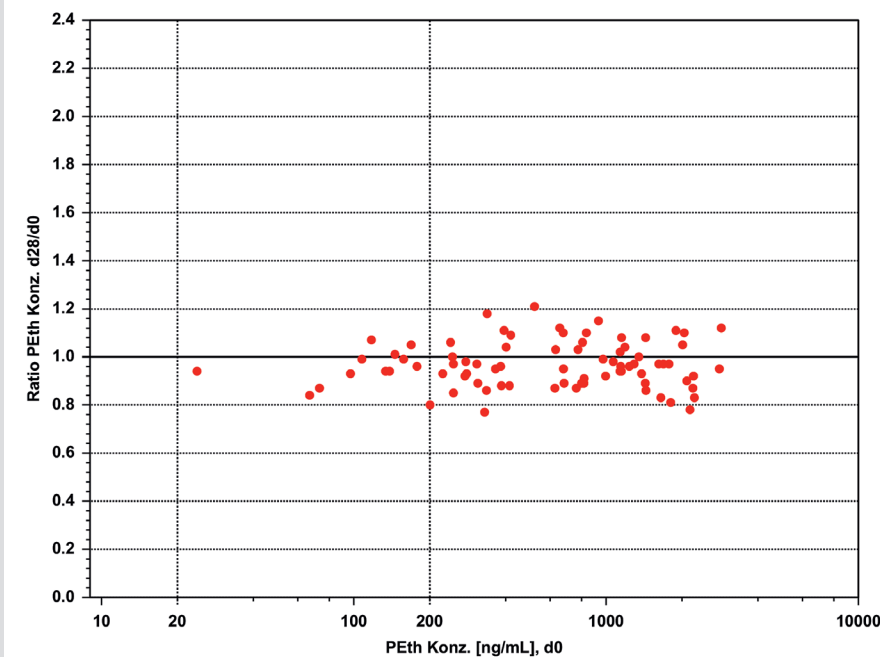


Bild 2a: Ratio der PEth Konzentrationen der *Ethanol* positiven Proben aus der Messung von Tag 0 und Tag 28 (PEth Konz. d28/d0) nach einer Lagerung bei 4°C gegen die PEth Konzentration von Tag 0. Die 4 statistischen Ausreißer wurden eliminiert

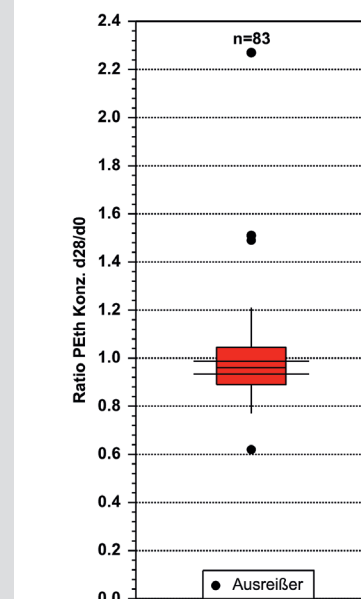


Bild 2b: Verteilung des Ratios der PEth Konzentrationen der *Ethanol* positiven Proben aus der Messung von Tag 0 und Tag 28 (PEth Konz. d28/d0) nach 4 wöchiger Lagerung bei 4°C

Beim Mitra® war die mittlere Konzentration zwar geringer, dennoch fanden sich auch dort Proben mit einer Konzentration oberhalb von 20 ng/ml. Eine mögliche Erklärung sind Inhaltsstoffe der Entnahmesysteme bzw. Reste aus der Produktion, die möglicherweise übertragbare Ethylgruppen enthalten.

Die Anwesenheit von Ethanol in der Blutprobe verstärkt die *in vitro* Bildung von PEth deutlich. Die Annahme, dass das Abdampfen des Ethanols und Wassers während des Trocknungsprozesses diese Prozesse generell verhindern kann, scheint damit nicht haltbar zu sein. Unsere Ergebnisse decken sich mit der Studie von Beck et al. 2021. In dieser wurde zusätzlich zu dem Mitra®, dem Capitainer® und dem Capitainer® mit Inhibitor auch das HemaXis DB 10 DBS-System getestet, bei dem ebenfalls eine zum Teil hohe *in vitro* PEth-Bildung in Anwesenheit von Ethanol beobachtet werden konnte.

Wie sich in Studie 1 Teil 3 zeigte, scheint die Hämolyse die PEth Bildung in Gegenwart von Alkohol zu verstärken. Dies erklärt die mitunter hohen PEth Werte im DBS, verglichen mit dem bei Raumtemperatur gelagerten VB-EtOH, da es während des Trocknungsprozesses zu hämolytischen Prozessen kommt.

Beim Capitainer® mit Phospholipase Inhibitor, welches mit negativem VB befüllt wurde, konnte bis auf einen Fall die *in vitro* Bildung von PEth verhindert werden. Dieser isolierte Fall im ersten Teil von Studie 1 kann jedoch auch als Artefakt betrachtet werden. Sofern die Probenentnahme richtig durchgeführt wird und es zu keinem Eintrag von Ethanol auf das Capitainer® Vanadate kommt, scheint die *in vitro* Bildung von PEth keine Rolle mehr zu spielen. Ist jedoch Ethanol im Blut vorhanden kann es dennoch zu falsch hohen PEth-Konzentrationen und damit möglicherweise auch zu Fehlbewer-

tungen bezüglich des Trinkverhaltens kommen. In unserer Studie wurde im Gegensatz zu Beck et al. 2021 in ca. 75% der Capitainer® Vanadate Proben eine *in vitro* Bildung von PEth in Anwesenheit von Ethanol beobachtet.

Die vorliegenden Daten zeigen, dass bevor ein Kapillarblutentnahmesystem verwendet wird, zumindest auf eine *in vitro* Bildung von PEth durch das Labor geprüft werden muss. Nicht alle Kapillarblutentnahmesysteme zeigen eine *in vitro* Bildung von PEth, wie zum Beispiel die Glaskapillare in Isopropanol, oder der bei Beck und Kollegen

	Alkohol negative Proben	Alkohol positive Proben
n Gesamtproben	446	83
n Ausreißer	23	4
Alkoholkonz. [g/l]	-	0,1 – 3,1
Mittelwert	0,99	0,97
Median	0,98	0,96
VK (%)	12,0	9,6

Tabelle 6: Studie 2: Ratio der PEth Konzentrationen aus der Messung von Tag 0 und Tag 28 (PEth-Konzentration d28/d0) nach einer Lagerung bei 4°C. Mittelwert, Median und VK beziehen sich auf das von statistischen Ausreißern bereinigte Probenkollektiv

(2021) erwähnte DBS auf der Whatman 903 Protein Saver card. I.v. gewonnenes EDTA-Vollblut ist zur PEth Bestimmung ebenfalls gut geeignet. Unter der Voraussetzung, dass die Proben bei 4°C gekühlt werden, kommt es auch in Anwesenheit von Alkohol innerhalb von vier Wochen zu keiner messbaren in vitro Bildung von PEth. Weiterhin ist PEth mindestens für diesen Zeitraum im i. v. gewonnenen EDTA Vollblut stabil und damit präanalytisch unproblematisch.

Insgesamt war die in vitro Bildung von PEth selbst bei Raumtemperatur innerhalb von 48 Stunden trotz der hohen Alkoholkonzentration mit ca. 1,6 g/l sehr niedrig, so dass fehlerhafte Bewertungen nicht ausgeschlossen, aber zumindest unwahrscheinlich sind. Wie erwartet nimmt die Bildungsrate von PEth in Gegenwart von Alkohol bei höheren Temperaturen deutlich zu.

Bei einem ungekühlten Proben transport (von EDTA-Vollblutproben) bei hohen Außentemperaturen, muss daher mit einer erhöhten in vitro Bildung von PEth in Anwesenheit von Alkohol gerechnet werden. Dieser Effekt könnte sich in abgeschwächter Form ebenfalls beim Trocknungsprozess von Kapillarblutproben zeigen. Darüber hinaus auffällig war die interindividuell sehr heterogene Bildungsrate von PEth in Anwesenheit von Alkohol, die sich schon bei Raumtemperatur zeigte und bei 37°C besonders ersichtlich war.

Zukünftige Studien können helfen weitere Erkenntnisse über die interindividuelle Variabilität der PEth Bildung zu erlangen und diese Beobachtungen zu bestätigen.

#### Literaturverzeichnis

- Aradóttir, S.; Moller, K.; Alling, C. (2004): Phosphatidylethanol formation and degradation in human and rat blood. *Alcohol and Alcoholism*, 39 (1), 8–13.
- Arndt, T. (2001): Carbohydrate-deficient transferrin as a marker of chronic alcohol abuse: a critical review of preanalysis, analysis, and interpretation. *Clinical chemistry*, 47(1), 13–27.
- Arndt, T. (2011): Biomarker des Alkoholkonsums – Eine Übersicht. *Toxichem Krimtech*, 78, 419–430.
- Årving, A.; Høiseth, G.; Hilberg, T.; Trydal, T.; Husa, A.; Djordjevic, A.; Kabashi, S.; Vindenes, V.; Bogstrand, S. T. (2021): Comparison of the diagnostic value of phosphatidylethanol and carbohydrate-deficient transferrin as biomarkers of alcohol consumption. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 45(1), 153–162.
- Beck, O.; Mellring, M.; Löwbeer, C.; Seferaj, S.; Helander, A. (2021): Measurement of the alcohol biomarker phosphatidylethanol (PEth) in dried blood spots and venous blood—importance of inhibition of post-sampling formation from ethanol. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 413 (22), 5601–5606.
- Beck, O.; Modén, N. K.; Seferaj, S.; Lenk, G.; Helander, A. (2018): Study of measurement of the alcohol biomarker phosphatidylethanol (PEth) in dried blood spot (DBS) samples and application of a volumetric DBS device. *Clinica Chimica Acta*, 479, 38–42.
- Brenner-Hartmann, J.; Fastenmeier, W.; Graw, M. (2022): Beurteilungskriterien. Kirschbaum Verlag, 4. Auflage, Bonn, S. 326
- Capiou, S.; Veenhof, H.; Koster, R. A.; Bergqvist, Y.; Boettcher, M.; Halmingh, O.; Keevil, B.; Koch, B.; Linden, R.; Pistos, C.; Stolk, L.; Touw, D.; Stove, C.; Alffenaar, J. W. C. (2019): Official international association for therapeutic drug monitoring and clinical toxicology guideline: development and validation of dried blood spot-based methods for therapeutic drug monitoring. *Therapeutic drug monitoring*, 41 (4), 409–430.
- Delahaye, L.; Veenhof, H.; Koch, B. C.; Alffenaar, J. W. C.; Linden, R.; Stove, C. (2021): Alternative sampling devices to collect dried blood microsamples: state-of-the-art. *Therapeutic drug monitoring*, 43 (3), 310–321.
- Denniff, P.; Spooner, N. (2014): Volumetric absorptive microsampling: a dried sample collection technique for quantitative bioanalysis. *Analytical chemistry*, 86 (16), 8489–8495.
- Faller, A.; Richter, B.; Kluge, M.; Koenig, P.; Seitz, H. K.; Thierauf, A.; Gnann, H.; Winkler, M.; Mattern, R.; Skopp, G. (2011): LC-MS/MS analysis of phosphatidylethanol in dried blood spots versus conventional blood specimens. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 401 (4), 1163–1166.
- Gnann, H.; Engelmann, C.; Skopp, G.; Winkler, M.; Auwärter, V.; Dresen, S.; Ferreiros, N.; Wurst, F.M.; Weinmann, W. (2010): Identification of 48 homologues of phosphatidylethanol in blood by LC-ESI-MS/MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 396 (7), 2415–2423.
- Gustavsson, L.; Alling, C. (1987): Formation of phosphatidylethanol in rat brain by phospholipase D. *Biochemical and biophysical research communications*, 142 (3), 958–963.
- Helander, A.; Böttcher, M.; Dahmen, N.; Beck, O. (2019): Elimination characteristics of the alcohol biomarker phosphatidylethanol (PEth) in blood during alcohol detoxification. *Alcohol and Alcoholism*, 54 (3), 251–257.
- Helander, A.; Hansson, T. (2013): National harmonization of the alcohol biomarker PEth. *Lakartidningen*, 110 (39–40), 1747–1748
- Helander, A.; Hermansson, U.; Beck, O. (2019): Dose-response characteristics of the alcohol biomarker phosphatidylethanol (PEth) – a study of outpatients in treatment for reduced drinking. *Alcohol and Alcoholism*, 54 (6), 567–573.
- Helander, A.; Péter, O.; Zheng, Y. (2012): Monitoring of the alcohol biomarkers PEth, CDT and EtG/EtS in an outpatient treatment setting. *Alcohol and alcoholism*, 47 (5), 552–557.
- Helander, A.; Zheng, Y. (2009): Molecular species of the alcohol biomarker phosphatidylethanol in human blood measured by LC-MS. *Clinical Chemistry*, 55 (7), 1395–1405.
- Kansal, M.; Guo, Y.; Kushon, S. (2017): Batch to Batch Variability in Mitra® Tips [technical brief; Neoteryx]
- Lenk, G.; Sandkvist, S.; Pohanka, A.; Stemme, G.; Beck, O.; Roxhed, N. (2015): A disposable sampling device to collect volume-measured DBS directly from a fingerprick onto DBS paper. *Bioanalysis*, 7 (16), 2085–2094.
- Luginbühl, M.; Wurst, F.M.; Stöth, F.; Weinmann, W.; Stove, C.P.; Van Uytvanghe, K. (2022): Consensus for the use of the alcohol biomarker phosphatidylethanol (PEth) for the assessment of abstinence and alcohol consumption in clinical and forensic practice (2022 consensus of Basel). *Drug Testing and Analysis*, 14 (10), 1800–1802
- Neumann, J.; Beck, O.; Helander, A.; Böttcher, M. (2020): Performance of PEth compared with other alcohol biomarkers in subjects presenting for occupational and pre-employment medical examination. *Alcohol and Alcoholism*, 55 (4), 401–408.
- Velghe, S.; Stove, C. P. (2018): Evaluation of the Capitainer-B microfluidic device as a new hematocrit-independent alternative for dried blood spot collection. *Analytical chemistry*, 90 (21), 12893–12899.
- Walter, L.; de Bejczy, A.; Löf, E.; Hansson, T.; Andersson, A.; Guterstam, J.; Hammarberg, A.; Asanovska, G.; Franck, J.; Söderpalm, B.; Isaksson, A. (2015): Phosphatidylethanol is superior to Carbohydrate-Defucosylated Transferrin and  $\gamma$ -Glutamyltransferase as an alcohol marker and is a reliable estimate of alcohol consumption level. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 39 (11), 2200–2208
- Spooner, N.; Olatunji, A.; Webbley, K. (2018): Investigation of the effect of blood hematocrit and lipid content on the blood volume deposited by a disposable dried blood spot collection device. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 149, 419–424.

#### ■ Verfasser

**Dr. rer. nat. Jasna Neumann**

jasna.neumann@laborpraxis-dessau.de

**Dr. rer. medic. Michael Böttcher**

michael.boettcher@laborpraxis-dessau.de

Anschrift:

MVZ Medizinische Labore Dessau Kassel GmbH  
Bauhüttenstr. 6  
06847 Dessau-Roßlau

## Sonderdrucke von Beiträgen aus

**ZVS**

Zeitschrift für  
Verkehrssicherheit

... können Sie unmittelbar nach Erscheinen in Auftrag geben. Mindestauflage 500 Exemplare.

Weitere Informationen erhalten Sie bei: Ralf Puzalowski,  
Telefon: 02 28/9 54 53–26 oder r.puzalowski@kirschbaum.de

