

Vermutliche Intoxikation mit Ethylenglykol – eine systematische Analyse?

H. Wollersen, F. Musshoff, B. Madea

Abstract

In the case of a supposed poisoning the identification of the consumed or given substances or substance-mixtures frequently poses a challenge. Due to the fact that the administration of a possible antidote should take place as fast as possible, the co-operation of physicians and toxicologists is of utmost importance. The structured proceeding of an exemplary clinical toxicological analysis at the Institute of Forensic Medicine of the University of Bonn is presented on the basis of a case of a supposed intoxication.

In the presented case, a 47 year old woman with known alcohol habit was presumed to have ingested antifreeze or a disinfection-solution and featured symptoms of an alcohol intoxication (shaky gait etc., loss of consciousness). First of all, blood was subjected to routine immunological investigations to test for amphetamines, barbiturates, benzodiazepines, cocaine, opiates, cannabinoids, methadone and antidepressants. In blood barbiturates and benzodiazepines were detected, these drugs however had been administered in the hospital. Ethanol concentration was determined to be 0.08 ‰. Headspace GC/FID-analysis was negative for propan-1-ol or propan-2-ol, the chief ingredients of the disinfection solution, and for ethyl glycol, the chief ingredient of antifreeze. During the toxicological analysis, the state of health of the patient deteriorated continuously. Further toxicological investigations did not produce any evidence for administration of a toxic substance. The patient finally died, and the subsequently performed autopsy determined that a brain edema of unknown origin but not as result of an acute intoxication, was the underlying disease and cause of death.

The progression of this case emphasizes the importance of communication between attending physician and toxicologist: as the observable symptoms in this case can be attributed to an intoxication as well as other causes, a differential diagnosis is essential.

1. Einleitung

Intoxikationen mit Alkoholen wie z.B. Methanol, Ethylenglykol und Propanolen werden in der Literatur häufig beschrieben [1-4], da diese Alkohole sehr verbreitete Inhaltsstoffe von z.B. Haushaltsprodukten sind. Ethylenglykol wird sowohl als Frostschutzmittel als auch als Bestandteil von Polier- und Reinigungsmitteln eingesetzt. Die Substanz ist als solche nicht sehr toxisch, wird aber im Organismus, v.a. in der Leber zu toxischen Produkten metabolisiert, was die Latenzzeit von 4-12 Stunden zwischen Ingestion und klinischer Symptomatik bei einer Intoxikation erklärt [1]. In Abb. 1 ist der Metabolismus von Ethylenglykol dargestellt. Im ersten Schritt wird Ethylenglykol zu Glykolaldehyd oxidiert, welcher dann durch Aldehyddehydrogenase zu Glykolsäure weiter oxidiert wird. Die

Glykolsäure wird im nächsten Schritt zu Glyoxylsäure oxidiert, welche dann u.a. zu Glycin, Oxalsäure, Ameisensäure und 4-Ketovaleriansäure umgewandelt wird.

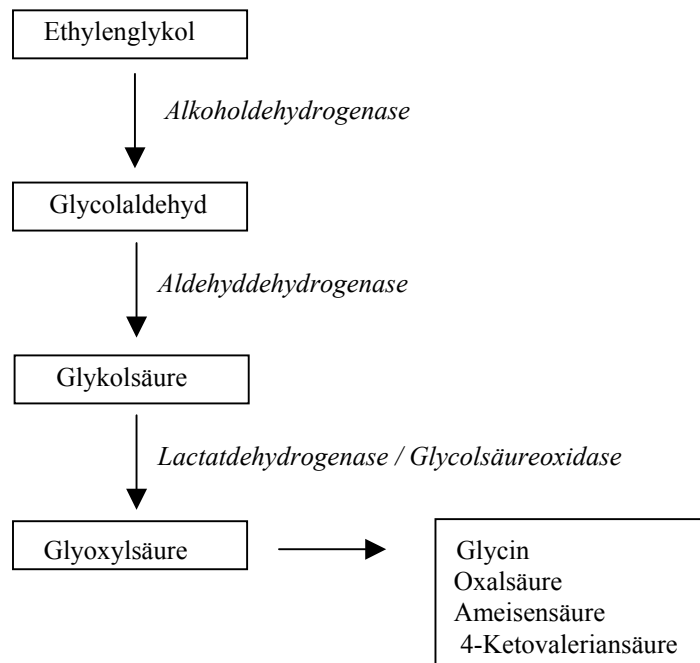


Abb. 1: Vereinfachter Metabolismus von Ethylenglycol [1, 5]

Akute Ethylenglykol-Vergiftungen gliedern sich in drei Stufen, wobei es auch zu Überlagerungen kommen kann [5]. Die erste Phase ist charakterisiert durch einen Rauschzustand wie bei Ethanol, darüber hinaus können Ataxie, Übelkeit, Schläfrigkeit und Krämpfe auftreten. In der zweiten Phase tritt eine Azidose auf und es kann zu Tachykardie, Cyanose, Lungenödem und einem Herzstillstand kommen. In verschiedenen Organen kann Kalziumoxalat auskristallisieren. Die dritte Phase ist durch eine Polyurie, gefolgt von Oligo- und Anurie gekennzeichnet und es kann sich ein terminales Nierenversagen entwickeln.

In dem hier vorgestellten Fall sollte eine Frau mit bekanntem chronischen Alkoholabusus Frostschutzmittel oder Sterillium[®] aufgenommen haben.

Die Hauptbestandteile von Sterillium[®] sind 1- und 2-Propanol. Intoxikationen mit 2-Propanol sind in der Literatur häufig beschrieben [6-9]. 2-Propanol wird im Körper zu Aceton metabolisiert. Das beteiligte Enzym ist wie bei Ethanol die Alkoholdehydrogenase (ADH). Der Unterschied zum Ethanol liegt aber in der geringeren Aktivität der ADH für das Substrat 2-Propanol. Daraus könnten sich im Vergleich zu Ethanol etwas längere Eliminationszeiten für 2-Propanol ergeben. 1-Propanol wird im menschlichen Körper durch die Alkoholdehydrogenase zu 1-Propanaldehyd und dann zu Propionsäure metabolisiert. In einem weiteren

Schritt entstehen dann Acetaldehyde und Essigsäure. Die Symptome einer Intoxikation sind ähnlich wie beim Ethanol [10]. Bei leichten Vergiftungen werden Übelkeit, Erbrechen und Somnolenz beobachtet. Bei schweren Intoxikationen stehen ein Kreislaufversagen mit massiver Hypotonie und einer Ateminsuffizienz im Vordergrund, anders als bei einer Ethylenglykointoxikation kommt es zu einer Hyperglykämie.

2. Kasuistik

2.1 Vorgeschichte und Umstände des Falles

Eine 47-jährige Frau leide unter einem mutmaßlichen chronischen Alkoholabusus. Sie arbeite als Reinigungskraft und sei drei Tage von ihrer Arbeit aufgrund von Krankheit (mutmaßlicher Rückfall, d.h. Alkoholkonsum) ferngeblieben. Bei Arbeitsbeginn um ca. 05.40 Uhr habe sie auf ihre Arbeitskollegen einen erheblich alkoholisierten Eindruck gemacht. Sie habe während des Gehens geschwankt, habe eine erhöhte Atemfrequenz (Tachypnoe) aufgewiesen und sei desorientiert und völlig verwirrt gewesen. Sie habe auffällig häufig nach einem Behälter Sterillium[®] gefragt, welcher auf einem Tisch gestanden habe. Weiterhin habe sie nach eigenen Angaben Sekt konsumiert, ein Alkoholgeruch sei aber nicht feststellbar und in ihrem Schrank seien keine Getränkereste auffindbar gewesen.

Gegen 08.00 Uhr sei die Frau dann auf die Intensivstation eingeliefert worden. Sie sei nicht mehr ansprechbar gewesen und habe eine massive Azidose (pH 6,8) aufgewiesen. Bei der polizeilichen Nachschau in der Garage der Betroffenen sei ein leerer 5 L Kanister Frostschutzmittel, eine leere Weinflasche und ein Tetrapack „Ratstropfen“ (Wein) gefunden worden. Es erfolgte die Abnahme einer Blutprobe und von Magensaft zur chemisch-toxikologischen Analyse (s. Ergebnisse). Es sei eine Hämodialyse durchgeführt und Fomepizol (selektiver Hemmer der Alkoholdehydrogenase [11]) verabreicht worden. Nach 7 Tagen intensivmedizinischer Therapie sei die Frau verstorben.

2.2 Wesentliche Obduktionsbefunde

Die Obduktion ergab ein ausgeprägtes Hirnödem (Hirngewicht 1530 g) als unmittelbare Todesursache (lt. neuropathologischem Gutachten) sowie eine finale Einblutung in die weiche Hirnhaut am Kleinhirngrund. Darüber hinaus fanden sich eine allgemeine Wassereinlagerung sowie punkt- bis fleckförmige Einblutungen in die serösen Häute als Zeichen einer Störung der Blutgerinnung. Als Zeichen des hochgradigen Blutverlustes im Rahmen einer Organentnahme (Nieren) für Transplantationszwecke trat die Organeigenfarbe hervor, die Haut- und Schleimhaut war blass und es fanden sich Totenflecke von geringer Ausdehnung und Intensität. Zwar standen die Nieren nicht mehr für postmortal morphologische Untersuchungen („Oxalatniere“) zur Verfügung, ihre Entnahme für Transplantationszwecke beweist jedoch eine normale Funktion.

3. Chemisch-toxikologische Untersuchungen

3.1 Screening-Untersuchungen

3.1.1 Immunchemischer Nachweis: Die immunchemischen Untersuchungen wurden mittels CEDIA (Microgenics, Passau) auf einem Hitachi 912 durchgeführt.

3.1.2 GC/MS-Screening: Es wurde 1 mL Material (Blut und Magensaft) nach Zugabe eines internen Standards mit 5 mL Phosphat-Puffer (pH 6) versetzt und nach Inkubation zentrifugiert. Es wurde ein saurer und ein basischer Extrakt mittels SPE gewonnen, die vereinigten Eluate wurden zur Trockne eingedampft, in Ethylacetat rekonstituiert und mittels GC/MS (Firma Hewlett Packard: GC 5890 Series II Plus, MS 5972 Series, Software Chemstation Version G1701BAB0100) analysiert. Nach der Analyse erfolgte die Derivatisierung des Extraktes gefolgt von einer erneuten Analyse.

3.1.3. HPLC/DAD-Screening: Es wurden 0,5 mL Material (Blut und Magensaft) mit Pufferlösung (pH 9) versetzt. Nach Zugabe des Extraktionsmittels Dichlormethan wurde zentrifugiert und anschließend die organische Phase eingengt. Der Rückstand wurde in mobiler Phase aufgenommen und mittels HPLC/DAD (Firma Shimadzu: LC-6A Pumpe, SIL-6B_L-Autosampler; SDP-M10 AVP DAD-Detektor) analysiert. Die Auswertung erfolgte mit der Software CLASS-VP 4.3 der Firma Shimadzu.

3.1.4. HS-SPME/GC/MS-Screening: Zum Screening auf flüchtige Substanzen wurde das Material (Blut und Magensaft) mit Ammoniumsulfat und Schwefelsäure versetzt ohne weitere Aufarbeitung direkt bei 90 °C aus dem Dampfraum mit der SPME-Faser extrahiert, anschließend erfolgte die Desorption im GC-Injektor desorbiert mit anschließender Chromatographie und massenspektrometrischer Detektion (GC Agilent 6890 Series, Agilent 5973 N MSD Massenspektrometer, CTC-CombiPAL-Autosampler, Software Agilent Chemstation Software G1701CA Version C.00.01 Firma Chromtech).

3.2 Methoden zur Quantifizierung

3.2.1 Ethanol: Die Ethanolbestimmung wurde entsprechend den Richtlinien für die Blutalkoholbestimmung für forensische Zwecke [12] durchgeführt.

3.2.2 Ethylenglycol, Aceton und Begleitstoffe: Zur Bestimmung von Ethylenglykol, Aceton und weiteren alkoholischen Begleitstoffen wurde 1 g Material (Blut und Magensaft) zu 2 g Natriumsulfat gegeben und mittels GC/FID vermessen.

3.2.3 Benzodiazepine: Zur Bestimmung der Benzodiazepin-Konzentration wurde 1 mL Material (Blut und Magensaft) nach Zugabe eines internen Standards mit 5 mL Chlorbutan extrahiert, anschließend 4 mL der orga-

nischen Phase abgenommen und bis zur Trockne eingeeengt. Der erhaltene Extraktionsrückstand wurde in 100 μL mobiler Phase gelöst und direkt mittels HPLC/DAD (Firma Shimadzu, s.o.) analysiert.

3.3.3 Barbiturate: Zur Bestimmung der Barbiturat-Konzentration wurde 1 mL Material (Blut und Magensaft) mit 50 μL der internen Standard-Lösung und 1 mL Puffer-Lösung (pH 3) versetzt. Anschließend wurde mit 5 mL Dichlormethan extrahiert und nachfolgend wurden 4 mL der organischen Phase unter Stickstoffstrom bis zur Trockne eingedampft. Der erhaltene Extraktionsrückstand wurde in 100 μL mobiler Phase gelöst und direkt mittels HPLC/DAD (Firma Shimadzu, s.o.) analysiert

4. Ergebnisse

Am Aufnahmetag im Krankenhaus wurde der Frau eine Blut- und eine Probe Magensaft entnommen. Die Untersuchung mittels GC/FID auf Aceton, Ethylenglykol sowie auf weitere Begleitstoffe erbrachte sowohl für Ethylenglykol, 1-Propanol, 2-Propanol und deren Metabolite Konzentrationen weit unterhalb des toxischen Bereiches [13]. In Abb. 2 sind das erhaltene GC/FID-Chromatogramm sowie eine Referenzprobe dargestellt. Die Alkoholkonzentration betrug 0,08 ‰. Die Untersuchung der Probe des Magensaftes ergab ebenfalls keine Hinweise auf eine Intoxikation mit Ethylenglykol oder 1- bzw. 2-Propanol.

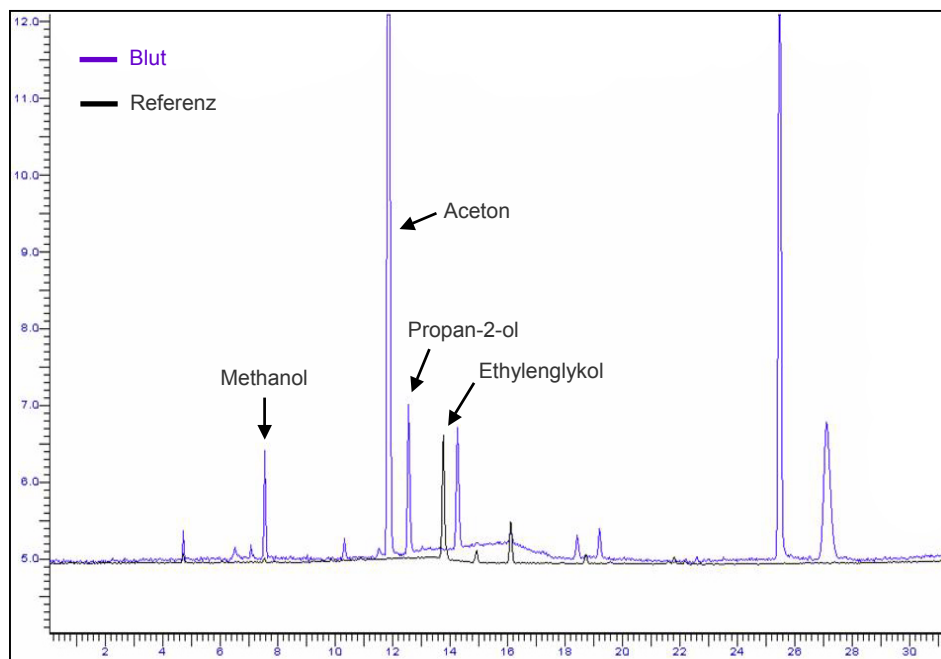


Abb. 2: GC/FID-Analyse der Blutprobe und Referenzprobe

Nachfolgend wurde eine systematische chemisch-toxikologische Analyse durchgeführt, da sich der Zustand der Frau nach Rücksprache mit den Ärzten weiter verschlechterte. Die erhaltenen Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Die immunchemischen Untersuchungen erbrachten in der Magensaft-Probe positive Befunde auf Benzodiazepine und im Blut auf Benzodiazepine und Barbiturate. Mittels eines GC/MS-Screenings (basierend auf Datenbank *Pfleger, Maurer, Weber*) und eines HPLC-DAD-Screenings (basierend auf Datenbank *Pragst und Erxleben*) wurden im Blut die Substanzen Thiopental und Pentobarbital nachgewiesen. Im der Magensaft-Probe konnten das Lokalanaesthetikum Mepivacain, das Benzodiazepin Midazolam und das Neuroleptikum Promethazin detektiert werden. Über diese Substanzen hinausgehend, welche der Frau im Krankenhaus verabreicht worden waren, konnten keine Hinweise auf die Aufnahme möglicher toxischer Substanzen aufgefunden werden. Auch die Durchführung eines SPME-Screenings erbrachte unauffällige Befunde.

Tab. 1: Chemisch-toxikologische Untersuchungen der Proben aus dem Krankenhaus (Blut und Magensaft)

<u>Immunchemische Untersuchung:</u>	
<u>Magensaft-Probe:</u>	
Benzodiazepine	positiv
<u>Blut:</u>	
Benzodiazepine	positiv
Barbiturate	positiv
<u>GC/MS-Screening:</u>	
<u>Magensaft-Probe:</u>	
Mepivacain	positiv (nicht quantifiziert)
Midazolam	positiv (nicht quantifiziert)
Promethazin	positiv (nicht quantifiziert)
<u>Blut:</u>	
Pentobarbital	positiv (nicht quantifiziert)
<u>HPLC/DAD-Screening bzw. Quantifizierung:</u>	
<u>Magensaft-Probe:</u>	
Promethazin	1,01 mg/L
Midazolam	0,30 mg/L
<u>Blut:</u>	
Pentobarbital	positiv (nicht quantifiziert)
Thiopental	positiv (nicht quantifiziert)
<u>SPME-Screening:</u>	
<u>Magensaft-Probe:</u>	
	unauffällig
<u>Blut:</u>	
	unauffällig

Die Frau verstarb nach 7 Tagen intensivmedizinischer Therapie und es wurde eine Obduktion durchgeführt. Die chemisch-toxikologische Untersuchung der Femoralvenenblutprobe erbrachte immunchemisch positive Befunde für Benzodiazepine und grenzwertige Befunde bezüglich einer Anwesenheit von Amphetaminen, welche zwanglos durch Interferenzen mit Fäulnisprodukten bzw. biogenen Aminen erklärt werden konnten. Zusätzlich wurde mittels HPLC/DAD-Analyse eine Thiopental-Konzentration $< 0,1$ mg/L ermittelt. Die Alkoholkonzentration betrug erwartungsgemäß 0,00 ‰. Die erhaltenen Ergebnisse der Untersuchung sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

Die Obduktion erbrachte Zeichen des Gerinnungsversagens (Einblutungen in die serösen Häute) und Zeichen des Blutverlustes bzw. der Anämie, die jedoch auf die Explantation von Organen zurückzuführen waren. Die Todesursache war laut neuropathologischem Gutachten ein ausgeprägtes Hirnödem letztlich unklarer Genese mit einer finalen Einblutung in die weiche Hirnhaut am Kleinhirngrund.

Tab. 2: Chemisch-toxikologische Untersuchungen der Femoralvenenblutprobe (nach Obduktion)

Immunchemische Untersuchung:	
<i>Blut:</i>	
Amphetamin-Test	grenzwertig
Benzodiazepine	positiv
HPLC/DAD-Screening bzw. Quantifizierung:	
<i>Blut:</i>	
Thiopental	$< 0,1$ mg/L
BAK	0,00 ‰

5. Diskussion

Dieser Fall verdeutlicht, wie wichtig eine differentialdiagnostische Betrachtung bei Verdacht auf eine mögliche Vergiftung ist. Beobachtete Symptome deuten häufig auf eine Intoxikation hin, sie können aber auch organischen Ursprungs sein. Im vorliegenden Fall lag der Verdacht einer Intoxikation mit Ethylenglykol oder 1- und 2-Propanol vor. Bei den Symptomen, welche die Frau zeigte (Schwanken, Tachypnoe und Desorientiertheit), handelte es sich um typische Zeichen einer Intoxikation mit Alkoholen. Darüber hinaus wurde in ihrer Garage ein leerer Kanister Frostschutzmittel gefunden. Im Krankenhaus wurde dann zusätzlich noch eine massive Acidose festgestellt. Eine chemisch-toxikologische Untersuchung erbrachte aber keine Hinweise auf eine Intoxikation durch Ethylenglykol oder weitere Alkohole. Die nachfolgend durchgeführte systematische Untersuchung verlief ebenfalls unauffällig. Erst bei der Obduktion konnte ein todesursächliches, ätiologisch und pathogenetisch jedoch letztendlich ungeklärtes massives Hirnödem festgestellt werden, das jedoch auch die klinische

sives Hirnödem festgestellt werden, das jedoch auch die klinische Symptomatik erklärt.

Primäres Ziel bei dem Verdacht einer Vergiftung ist die Stabilisierung des Patienten. Nachfolgend steht die Identifizierung der toxischen Substanz im Vordergrund, um mögliche Therapieschritte (Antidot-Gabe, Magenspülung etc.) einzuleiten. Zumeist werden hierzu vom Patienten, von Begleitpersonen oder durch Nachschau Angaben erhalten. Diese Angaben sind jedoch vielfach nicht gesichert und dürfen nur als Hinweise gewertet werden, da dies sonst zu einer voreingenommenen Haltung in der klinischen Untersuchung führen könnte [14]. Durch Diskussion mit einem Toxikologen können dann mit Hilfe von sogenannten Leitsymptomen, die charakteristisch für eine Substanz oder Substanzgruppe sind, weitere mögliche Informationen gewonnen werden. Ergänzend können die gewonnenen Informationen auch mit dem Symptomenspektrum von häufigen und wichtigen Toxidromen verglichen werden. Dies sind Symptomkomplexe, die mit einer Substanz oder Substanzgruppe in Verbindung stehen.

Liegt ein Verdacht einer möglichen toxischen Substanz vor, so erfolgt die gezielte chemisch-toxikologische Analyse. Erfolgt hier die Bestätigung, so kann mit der Therapie begonnen werden. Wird die vermutete Substanz nicht nachgewiesen, so muss eine systematische toxikologische Analyse durchgeführt werden. Hierzu stehen verschiedene Screening-Verfahren zur Verfügung. Im Folgenden soll eine mögliche Vorgehensweise beispielhaft vorgestellt werden: In einem ersten Schritt erfolgt die immunchemische Untersuchung der Probe. Nachfolgend kann dann ein GC/MS-Screening nach saurer und basischer Probenaufarbeitung bzw. mit und ohne Acetylierung erfolgen. Der Spektrenvergleich wird mit der Datenbank von Pflieger, Mauer und Weber durchgeführt. Parallel zu dem GC/MS-Screening eröffnet ein HPLC/DAD-Screening nach saurer und basischer Aufarbeitung auf Basis der Datenbank von Pragst und Erxleben die Aufdeckung weiterer möglicher aufgenommener Substanzen. Flüchtige Substanzen können bei einem SPME-Screening detektiert werden. Schließlich kann der Einsatz einer LC-MS erfolgen, um spezielle Analyten nachzuweisen.

Eine chemisch-toxikologische Analyse ist im Rahmen einer Differentialdiagnostik sowohl zum Nachweis als auch zum Ausschluss einer Intoxikation zwingend durchzuführen. Besonders deutlich wird dies an dem Fall, über den Nau et al. 1999 [15] berichteten: Ein Patient zeigte nach einem Schädel-Hirn-Trauma zusätzlich Zeichen einer akuten Alkohol-Intoxikation. Die CT-Untersuchung ergab ein Subduralhämatom, welches trotz neurologischer Verschlechterung keine Befunddynamik lieferte. Erst der Nachweis einer Azidose führte dann nach chemisch-toxikologischer Analyse zur Diagnose einer Ethylenglykol-Intoxikation und der Patient konnte erfolgreich behandelt werden.

6. Literatur

- [1] Henderson WR, Brubacher J (2002) Methanol and ethylene glycol poisoning: a case study and review of current literature. *CJEM* 4(1): 34-40
- [2] Lovrić M, Granić P et al. (2007). Ethylene glycol poisoning. *Forensic Sci Int* 170(2-3): 213-5
- [3] Freilich BM, Altun Z, Ramesar C, Medalia A (2007) Neuropsychological sequelae of ethylene glycol intoxication: a case study. *Appl Neuropsychol* 14(1): 56-61
- [4] Pellegrino B, Parravani A, Cook L, Mackay K (2006) Ethylene glycol intoxication: Disparate findings of immediate versus delayed presentation. *V Med J* 102(4): 32-4
- [5] Cavender FL, Sowinski EJ (2001) Glycols in: Bingham E, Cohns B, Powell CH (Hrsg.) "Patty's Toxicology" Jahn Wiley & Sons, Inc., New York, Band 7, 5. Auflage: 1-71
- [6] Blanchet B, Charachon A, Lukat S, Huet E, Hulin A, Astier A. (2007) A case of mixed intoxication with isopropyl alcohol and propanol-1 after ingestion of a topical antiseptic solution. *Clin Toxicol (Phila)* 45(6):701-4
- [7] Zaman F, Pervez A, Abreo K. (2002) Isopropyl alcohol intoxication: a diagnostic challenge. *Am J Kidney Dis* 40(3): E12
- [8] Bekka R, Borron SW, Astier A, Sandouk P, Bismuth C, Baud FJ (2001) Treatment of methanol and isopropanol poisoning with intravenous fomepizole. *J Toxicol Clin Toxicol* 39(1): 59-67
- [9] Mydler TT, Wasserman GS, Watson WA, Knapp JF (1993) Two-week-old infant with isopropanol intoxication. *Pediatr Emerg Care.* 9(3): 146-8
- [10] Brent J, McMartin K, Phillips S et al. (1999) Fomepizole for the treatment of ethylene glycol poisoning. *Engl J Med* 340: 832-838
- [11] Ludwig R (1999) Akute Vergiftungen, Ratgeber zu Erkennung, Verlauf, Behandlung und Verhütung toxikologischer Notfälle, 9. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbh Stuttgart
- [12] Deutsche Gesellschaft für Rechtsmedizin und Gesellschaft für Forensische Toxikologische Chemie. Richtlinien für die Blutalkoholbestimmung für forensische Zwecke (2001). *Blutalkohol* 38: 39-42
- [13] Schulz M, Schmoldt A (2003) Therapeutic und toxic blood concentrations of more than 800 drugs and other xenobiotics. *Pharmazie* 58: 447-474
- [14] Sieber RS (2001) Leitsymptome und Toxidrome als diagnostische Hilfe bei Intoxikationen. *Schweiz Med Forum* 16: 406-409
- [15] Nau Th, Seitz H, Kapral S, Schalupny J, Templ E (1999) Äthylenglykolvergiftungen und Schädel-Hirn-Trauma- Eine gefährliche Kombination. *Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 34: 318-320

Dr. rer. nat. Heike Wollersen
Institut für Rechtsmedizin
Justus-Liebig-Universität Giessen
Frankfurter Str. 58
D-35392 Giessen
Heike.Wollersen@forens.med.uni-giessen.de

Priv. Doz. Dr. rer. nat. Frank Mußhoff
Prof. Dr. med. Burkhard Madea
Institut für Rechtsmedizin
Rheinische-Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn
Stiftsplatz 12
D-53111 Bonn