

## Phosphatidyléthanol, marqueur direct des usages de l'alcool, dans la pratique courante.

Journe Bruno+, Sadeg Nouredine++,

+ Médecin addictologue, Paris, Fondateur de La Santé se Mesure,

++ Pharmacien biologiste, expert près de la Cour d'Appel d'Amiens, Directeur du Laboratoire IMITOX,

### Résumé

#### Objectif

Le phosphatidyléthanol (PEth, prononcer P-E-T-H) est un lipide anormal qui apparaît dans les membranes des cellules exposées à l'éthanol. Le PEth apparaît dans toutes les cellules, dans les minutes qui suivent l'exposition à l'éthanol et disparaît dans les semaines qui suivent. Le PEth est un marqueur direct, parfaitement spécifique et proportionnel des usages de l'alcool. Pour le rendre accessible, nous avons rassemblé et éprouvé, à partir d'une consultation de médecine générale-addictologie, de nouvelles technologies de prélèvements et de mesure du PEth.

#### Matériel et méthode

Pour les prélèvements, nous avons utilisé les VAMS de NEOTERYX, dispositif médical qui absorbe 10 µL de sang capillaire. La "goutte de sang séchée" (DBS) permet de stabiliser, transporter et conserver parfaitement les phosphatidyléthanol. Les mesures du PEth 16:0/18:1 sont faites par chromatographie liquide haute résolution couplée à une détection par spectrométrie de masse (LC-HRMS).

Pour évaluer la spécificité et la sensibilité de la mesure du PEth, nous avons collecté des échantillons de sang auprès de personnes consultant pour mésusage de l'alcool, d'autres sobres ou porteuses d'autres pathologies.

#### Les résultats

Les résultats obtenus confirment les qualités du PEth :

- Parfaitement spécifiques des usages de l'alcool,
- Sensibles et proportionnels aux quantités absorbées,
- Demi-vie longue, détectable après 4 semaines de sevrage,

La méthode de prélèvement, d'envoi des échantillons et de mesure sont efficaces :

- Les prélèvements sont simples à réaliser, non douloureux, acceptables,
- La conservation et le transport des échantillons sont adaptés aux consultations ambulatoires.

#### Conclusion

Ce travail confirme l'intérêt du phosphatidyléthanol (PEth), marqueur direct des usages de l'alcool, dans la relation clinique. Un marqueur spécifique des usages de l'alcool est un outil de dialogue et de soin. Dans les situations juridiques, le PEth est une preuve solide.

#### Mots clés

Phosphatidyléthanol, PEth (P-E-T-H), alcool, mésusage, goutte de sang séchée (DBS), marqueur biologique direct, spectrométrie de masse.

# Introduction

Le phosphatidyléthanol (PEth) découvert en 1983, est un phospholipide anormal. Il apparaît dans les parois des cellules exposées à l'éthanol. (Alling-1). Depuis 1997, le PEth est reconnu comme marqueur biologique parfaitement spécifique et proportionnel des usages de l'alcool dans les semaines passées. (Hanson-2)

Nous avons réuni les technologies adaptées pour proposer la mesure du PEth dans une consultation, quand il est nécessaire d'objectiver le niveau des usages de l'alcool ou de l'absence de consommation. Nous avons évalué la faisabilité et l'intérêt des résultats des mesures du PEth. Une centaine de personnes, consultant pour des problématiques d'usage de l'alcool dans notre cabinet de médecine-addictologie, ont participé à cette étude.

## Le phosphatidyléthanol, présentation

Quand les cellules rencontrent de l'alcool (éthanol), elles fabriquent des métabolites anormaux, parmi eux : les phosphatidyléthanol (PEth). Les PEth ne se produisent dans aucune autre circonstance. Ils sont parfaitement spécifiques du contact entre les membranes et l'éthanol. (Gustavsson-3 ; Kobayashi-4 ; Aradottir-5 ; Varga-6)

Les PEth se forment dans toutes les membranes cellulaires, neurones, muscles, foie, placenta..., dans les membranes externes et internes, nucléaires, mitochondriales... Les PEth présents dans les enveloppes des hématies ont une durée de vie longue. Une goutte de sang capillaire séchée est un excellent échantillon pour effectuer cette mesure.

Quand la phospholipase D (PHD) rencontre de l'éthanol, elle transforme la phosphatidylcholine en choline et phosphatidyléthanol. Normalement, quand la PHD membranaire rencontre de l'eau, elle transforme la phosphatidylcholine en choline et acide phosphatidique. La phospholipase D a une affinité pour l'alcool 100 à 1000 fois plus forte qu'avec l'eau ! (Tóth-7 ; Shukla-8 ; Lundqvist-9)

Les phosphatidyléthanol sont des lipides (acides) à longues chaînes insaturées. Selon la position des doubles liaisons, 48 différentes formes de phosphatidyléthanol ont été identifiées. Leurs cinétiques sont différentes. Le PEth 16:0/18:1 (palmitoyl-2-oléoyl-glycéro-3-phosphoéthanol) est devenu la mesure de référence, le plus abondant (48%), la plus longue durée de vie. (Gnann-10 ; Javors-11 ; Gnann-12 ; Hill-Kapturczak-13 ; Helander-14)

Les phosphatidyléthanol se forment dans les minutes qui suivent le contact avec l'éthanol et disparaissent lentement, dans les semaines suivantes. La dégradation des PEth se fait par la phosphatidylcholine-phospholipase-C (PLC), présente dans les hépatocytes, les îlots pancréatiques ou les leucocytes, mais absente dans les hématies. Les PEth s'accumulent dans les hématies. (Lundqvist-15 ; Helander-16 ; Gnann-17)

La demi-vie du PEth16:0/18:1 dans les études publiées est de l'ordre de 6 jours. Dans les situations de mésusages importants et anciens, le PEth peut être retrouvé après deux mois d'abstinence. (Shukla-18 ; Schröck-19 ; Luginbühl-20)

## Le phosphatidyléthanol, marqueur innovant des usages de l'alcool

Le phosphatidyléthanol se mesure par chromatographie liquide haute résolution, couplée à une détection par spectrométrie de masse (LC-HRMS), techniques disponibles dans les laboratoires de toxicologie. Les mesures par LC-HRMS reposent sur la précision des étalons. Depuis peu, des étalons commerciaux de PEth 16:0/18:1 assurent spécificité et quantification des mesures.

Les membranes cellulaires sont très réactives à l'éthanol, y compris in-vitro. Il est essentiel de ne pas désinfecter la peau à l'alcool et de ne pas appliquer de solution hydroalcoolique dans les 15 minutes qui précèdent le prélèvement. La présence d'alcool dans le sang augmente la concentration du PEth après le prélèvement. Les mesures sur sang total doivent être faites rapidement (dans les 24 h), le sang doit être réfrigéré à (+4°), la congélation (-80°) est efficace. (Augsburger-27)

La goutte de sang séché (Dry Blood Spot - DBS), consiste à prélever une goutte de sang capillaire sur un buvard standardisé. Technique connue dans les maternités sous le nom de « Test de Guthrie » pour dépister la phénylcétonurie (depuis 1960). Le sang séché conserve une partie de ses propriétés à température ambiante sans limite de temps. Ce mode de prélèvement est d'actualité, il permet de nombreux dosages. La limite du buvard est l'absence de précision de la quantité de sang. L'hématocrite (relation cellule/plasma) intervient dans la diffusion de sang dans le buvard. Différents dispositifs apparaissent pour apporter de la précision au DBS en prélevant une quantité précise de sang. Les lipides membranaires secs, dont le phosphatidyléthanol, sont parfaitement conservés à température ambiante. Les prélèvements secs, correctement enveloppés, circulent par voie postale. Ces échantillons biologiques présentent peu de risque contaminant. Les prélèvements peuvent être effectués à distance, dans les structures de soin et parvenir au laboratoire spécialisé à peu de frais. (Stove-28 ; Bakhireva-29 ; Beck-30)

## Matériel et méthode

Nous avons étudié la faisabilité et l'intérêt de la mesure du phosphatidyléthanol dans une pratique médicale ambulatoire. Nous avons mesuré le PEth 16:0/18:1 (palmitoyl-2-oléoyl-glycéro-3-phosphoéthanol).

Nous avons proposé un prélèvement à une centaine de patients entre mai 2019 et juin 2020. Quelques personnes ont demandé la mesure du PEth pour présenter les résultats à la Justice. Nous avons pu suivre l'évolution du PEth après sevrage chez 3 personnes. Pour tester la spécificité, nous avons effectué des mesures chez des patients présentant des pathologies hépatiques sans consommer d'alcool.

Les patients ont été informés et ont accepté de participer à l'étude. Un dossier complété précise les modalités des usages de l'alcool, les quantités consommées (UA) et le score AUDIT. Ces éléments sont collectés dans le respect et la confiance des déclarations faites. L'objectif n'est en aucun cas la démonstration des dénis. Pour 15 dossiers, nous avons connaissance des bilans biologiques usuels (VGM, ASAT, ALAT, GGT). Les Cdt (transferrine déficiente en carboxylase) ont été retrouvées 3 fois dans ces dossiers. L'usage est de mesurer la Cdt pour les commissions de permis de conduire. Dans le cadre de nos consultations, nous voyons les Cdt toujours négatives.

Notre étude ne comporte pas d'intervention sur les personnes, nous n'avons pas partagé les données nominatives. Dans ces conditions, il n'est pas nécessaire d'obtenir d'agrément de la Commission Nationale Informatique et liberté (CNIL).

Pour les prélèvements, nous avons utilisé des VAMS (Volumetric Absorptive MicroSampling) de NEOTERYX de 10 µL. Les prélèvements secs ont été envoyés par la poste au laboratoire d'analyse médical IMITOX.

Les analyses sont effectuées par chromatographie liquide haute résolution couplée à une détection par spectrométrie de masse (LC-HRMS) (LC modèle 1260 et QTOF modèle 6445 de Agilent).

Le VAMS est mis dans un tube Eppendorf, on ajoute 200 microlitres de méthanol (LCMS). Le tube est mis 5 minutes à l'agitateur vortex. La solution méthanolique est passée sur un filtre de 0.22 micromètre. Le filtrat injecté dans le système LC-QTOF. Etalonnage externe avec du sang total titré à : PEth 40 ng/mL (34-57) et PEth 300 ng/mL (250-366) ; (fournisseur : ACQ-Science, PEth S 40 ng/mL ; WH PEth S 300 ng/mL WH – In vitro diagnosticum).

## Résultats et discussion

### 1. PEth, tests de spécificité (Tableau 1 en annexe)

Pour vérifier la spécificité du PEth, nous avons fait des prélèvements dans des situations pathologiques, au cours de traitements potentiellement perturbateurs, chez des personnes se déclarant abstinentes au cours d'actions judiciaires.

- Y, hépatite C chronique active, enzymes hépatiques élevés et variables (2 à 4 fois la norme), consommations déclarées entre 3 et 4 verres (UA) par jour le PEth est à 126 ng/mL. Dès le premier mois du traitement par les antirétroviraux directs, le bilan hépatique est normalisé. Les consommations sont un peu diminuées, le PEth à la fin du traitement (3mois) est à 80 ng/mL, confirme la réaction hépatique liée au VHC.
- Z, carcinose péritonéale, sous chimiothérapie (5-1 Fluoro-uracile-Oxaliplatine), bilan hépatique très perturbé, enzymes ASAT, ALAT, GGT, 10 fois la norme, le PEth est négatif, pas de consommation déclarée depuis des mois.
- W, Hypertension artérielle (HTA), traitement par IEC et statine, ne consomme pas d'alcool, PEth non détectable.
- N, attestation en Justice, personnalité ambigüe, déni, épisode de violence sous alcool, reconnaît quelques consommations, en soirée, "Normale, par habitude", le PEth est revenu négatif après deux ans de suivi.
- M, attestation en Justice, PEth indétectable, preuve de l'abstinence reçue par le Juge.

Ces mesures sont fidèles à la réputation du PEth :

- ✓ Spécifique de la rencontre avec l'éthanol,
- ✓ Absence de réaction croisée connue à ce jour,
- ✓ Dans les situations de déni, le PEth détecté ouvre le dialogue.

Notre expérience confirme le haut niveau de sensibilité et spécificité du PEth comme marqueur biologique des usages de l'alcool. Dans les situations médico-légales où les usages de l'alcool sont problématiques, la mesure du PEth apporte des réponses claires (retrait de

permis de conduire, garde d'enfant, jugement pour violence), de la même façon dans les métiers où la vigilance est essentielle et l'alcool un risque. (2019 Helander-31 ; 2016 Kummer-32 ; 2018 Ulwelling-33 ; 2020 Andresen-34)

## 2. Tests de sensibilité, résultats corrélés PEth/Consommations déclarées (Tableau et graphes 2 en annexe)

Consultants	Genre	Âge	PEth ng/mL	UA/jour	AUDIT score
57	F+M	45 (20-70)	571 (0-2566)	6,6 (0-25)	18 (0-35)
19	F	50 (25-67)	639 (36-2566)	6 (2-10)	19,5 (7-30)
38	M	43 (20-70)	539 (0-2432)	7 (0-20)	17 (0-28)

Nous présentons 57 résultats, pour lesquels les données utiles ont été collectées.

- Âge moyen 45 ans, (20 à 70 ans)
- Mesure du PEth moyenne : 571 ng/mL, (0 à 2566)
- Nombre d'unités alcool déclarées : 6,6 UA, (0 à 25 UA)
- Score AUDIT moyen : 18, (0 à 35)

Nous avons ordonné, par ordre croissant, les mesures du PEth des 57 sujets prélevés ; parallèlement, les valeurs des unités d'alcool consommées déclarées et les scores de l'AUDIT. 3 personnes étaient en situation de sevrage, 3 se déclarant non-consommatrices.

Les courbes PEth, UA et AUDIT sont sommairement parallèles. Les points 7 et 23 correspondent à des personnes en sevrage.

Notre expérience confirme la proportionnalité du niveau du PEth avec la situation clinique, les consommations déclarées ou plausibles. En l'absence de consommation, le PEth n'est pas retrouvé. Pour des consommations faibles, de l'ordre de 2 verres jour, pas tous les jours (2UA/J ou 10 UA/semaine), le PEth est en-dessous de 100 ng/mL. Des valeurs supérieures à 800 ng/mL sont trouvées dans des usages déclarés de l'ordre de 6 à 10 UA/J. Nous constatons dans les plus hauts dosages de PEth, des stigmates cliniques de consommations élevées et de sous-déclaration probables. (1997 Hansson-2 ; 2009 Isaksson-35 ; 2015 Kechagias-36).

## 3. Corrélations PEth, genres, consommations déclarées (UA+AUDIT)

Par genre, notre étude réunit 19 femmes et 38 hommes. Ces chiffres correspondent à la sociologie du site. Les demandes de consultations concernent 2 fois plus d'hommes que de femmes, les femmes revenant plus souvent aux consultations suivantes.

	Femmes	Hommes
Age moyen	50 ans, (25-67)	43 ans, (20-70)
PEth moyenne	639 ng/L (36-2566)	539 ng/L (0-2432)
Conso déclarées	6.6 UA (2-10)	7 UA (0-20)
Score AUDIT	19.5 (0-30)	7 (0-28)

Nous n'avons pas eu l'occasion de tester le PEth chez des femmes en situation de sevrage.

Dans notre série, le niveau moyen du PEth est 20% plus élevé chez les femmes que chez les hommes. Cette différence correspond à des niveaux de consommation et d'ancienneté des mésusages de l'alcool plus importants chez les femmes consultantes, qui ont accepté le prélèvement.

Les dénis d'usage de l'alcool compliquent les soins. En médecine, il apparaît que 2/3 des consultants reconnaissent leurs consommations (ou l'absence de), les marqueurs le confirment. Pour 1/3 des consultants, les marqueurs directs révèlent une consommation non déclarée. En obstétrique et périnatalogie, les consommations, quand elles sont recherchées, sont davantage reconnues (9/10). Les marqueurs directs permettent de repérer précocement les risques liés aux alcoolisations au cours de la grossesse. Les marqueurs directs des usages facilitent l'accompagnement et les soins. Il n'y a plus de place pour une estimation ou des doutes. La mesure du PEth apporte à la réduction des risques et des dommages. (2019 Maxwell-38; 2018 May-39; 2017 Bracero-40; 2017 Bakhireva-41; 2015 Yang-42)

#### 4. Corrélations entre PEth et biologies usuelles (Tableau et graphes 3 en annexe)

Pour 15 patients, nous avons connaissance de bilans biologiques. Il s'agit de bilans généraux, nous en avons extrait les marqueurs indirects : VGM, ASAT, ALAT, GGT. La Cdt a été retrouvée 3 fois dans ces dossiers. L'usage est de mesurer la Cdt pour les commissions de permis de conduire. Dans nos consultations, nous les voyons toujours négatives.

- PEth moyen est de 920 ng/mL,
- UA à 8/jour,
- AUDIT à 20,

Les marqueurs indirects :

- Moyenne du VGM 92 => normal
- Moyenne des ASAT 30 ui => normal
- Moyenne ALAT 28 ui => normal
- Moyenne GGT 60 ui => limite supérieure de la normale

Les données de cette série sont très informatives. Elles rejoignent les publications conséquentes. Tous les critères d'usage problématiques de l'alcool sont réunis, les biologies usuelles, le "bilan hépatique" apporte peu, voire aucune information sur les risques liés aux usages de l'alcool. (2020 Neumann et col-43 ; 2007 Hartmann-44)

#### 5. En situation de sevrage, durée de vie du PEth (Tableau et graphe 4 en annexe)

Nous avons effectué des mesures répétées sur 3 personnes en situation de sevrage pendant deux mois. Dans un cas, il s'agit de mesures faites après une consommation très excessive ponctuelle (binje-drinking).

- Pat-1, Mr Z, 40 ans, consommation de l'ordre de 15 UA par jour depuis des années, vient consulter 3 jours après sa décision de sevrage afin d'être suivi, soutenu et obtenir un arrêt de travail. En 2 mois, cliniquement, la métamorphose physique et psychique est impressionnante. Le PEth suit la courbe attendue.
- Pat-2, Mr Y, 38 ans, consommateur ponctuellement très excessif (2 fois par an, ivresse accompagnée de troubles majeurs des comportements) prélèvement 0 fait une semaine après un épisode. Entre ces crises, 0 à 6 UA par semaine. Le PEth suit ces fluctuations.

- Pat 3, Mr W, 18 ans, consommation moyenne 6 UA /jour, revu au décours d'une longue hospitalisation avec sevrage et d'une reprise des consommations 3 UA depuis une semaine.

Le PEth est parfaitement spécifique, la question de sa durée de vie est tout aussi importante dans le cadre des diagnostics des usages de l'alcool. En 2000, pour Varga et Gnann, la demi-vie moyenne du PEth sanguin était de  $4,0 \pm 0,7$  jours avec une plage de 3,0–5,3 jours (Varga-6 ; Gnann-17). En 2007 - 2010, pour Wurst et Aradottir, le PEth reste détectable après 28 jours de sobriété (Wurst- Aradottir 37, 45). En 2020, pour Wolfgang Weinmann, quand les usages de l'alcool sont excessifs et prolongés, le PEth se retrouve après deux mois d'abstinence. La demi-vie est alors de 13 à 15 jours. (2020 Weinmann-17).

L'évolution des technologies, à notre avis, joue un rôle dans ces changements constatés de durée de vie du PEth. Le PEth est un métabolite membranaire sensible et fragile. A côté de l'évolution des appareils et des étalons, l'apport des prélèvements quantifiés et séchés est une avancée dans la fiabilité des mesures.

Notre expérience sur cette petite série rejoint les publications récentes, la demi-vie du PEth 16:0/18:1 est longue : 10 à 15 jours. Cette propriété en fait un marqueur sensible et proportionnel des usages de l'alcool. Pour accompagner ou démontrer un sevrage, la mesure du PEth doit être renouvelée toutes les 4 semaines.

## 6. Stabilité des échantillons secs (Tableau 5 en annexe)

Nous avons fait une dizaine de contrôles de conservation et stabilité des échantillons secs, prélevés avec des VAMS, conservés à température ambiante, sans précaution particulière, entre 2 et 8 mois (Tableau 5).

La moyenne de la variation est de 15%. Certaines valeurs passent du simple au double, ces différences confirment la fragilité des PEths (modification de la structure des doubles liaisons). L'essentiel reste dans la détection du PEth, d'une évaluation de son niveau et de sa cohérence avec la clinique.



## 7. Le PEth dans la pratique clinique

Le PEth est un marqueur direct des usages de l'alcool, spécifique, précis et proportionnel. La durée de vie du PEth est longue, de 4 à 8 semaines.

Nous proposons une grille de lecture des mesures du PEth. Elle évalue les quantités consommées, les risques ou les réalités du sevrage.

PEth en nanogramme par mL	Risques à envisager	Consommations
0 ou indétectable	Pas de consommation ou sevrage démontré	Pas de consommation depuis 4 semaines ou davantage
Inférieur à 100	Risques modérés	2 verres par jour, 5 jours sur 7
101 à 600	Risques potentiels	5 à 7 verres par jour
600 et plus	Risques importants	10 à 20 verres par jour

1 verre= 10 g alcool= 1UA (unité alcool)

Dans les situations de sevrage, les mesures doivent être répétées toutes les 4 semaines.

Disposer d'un marqueur des usages de l'alcool est un outil de dialogue et de soin. Dans les situations juridiques, c'est un élément de preuve solide.

Il existe peu de tests aussi concluants et probants que le PEth ! (Kim Smith 2008-33)

## Conclusion

Le phosphatidyléthanol (PEth) est un marqueur direct des usages de l'alcool. Un marqueur parfaitement spécifique du contact des cellules avec l'éthanol. A ce jour, aucune interaction n'a été signalée avec des traitements ou des pathologies. Le PEth a une durée de vie longue, il reste détectable 4 semaines après un épisode de consommations excessives.

Les mesures du PEth sont homogènes avec la situation clinique. Comparé à une mesure de l'alcoolémie, marqueur direct valide 24 heures, la mesure du PEth est valide quelques semaines. En comparaison, les marqueurs indirects (VGM, GGT... et Cdt) apparaissent peu sensibles.

Pour les prélèvements, la goutte de sang quantifiée et séchée est simple et fiable. L'échantillon sec parvient par la poste au laboratoire. La mesure se fait par chromatographie couplée à la spectrométrie de masse, comparée à des étalons standardisés.

Le résultat de la mesure du PEth permet d'évaluer le niveau des usages (banal, à risques, à hauts risques) et l'absence d'usage.

Disposer d'un marqueur des usages de l'alcool est un outil de dialogue et de soin. Dans les situations juridiques, c'est un élément de preuve solide.

## Déclaration d'intérêts

Les auteurs ne déclarent aucun conflit d'intérêt.



## Bibliographie

- 1 - Alling, C.; Gustavsson, L.; Anggard, E. An abnormal phospholipid in rat organs after ethanol. *FEBS Lett.* 1983, 152, 24–28
- 2 - Hansson P, Caron M, Johnson G, Gustavsson L, Alling C (1997) Blood phosphatidylethanol of alcoholic abuse: levels in alcoholic males during withdrawal. *Alcohol Clin Exp Res* 21:108–110. PMID:9046381.
- 3 - Gustavsson, L. ESBRA 1994 Award Lecture. Phosphatidylethanol formation: specific effects of ethanol mediated via phospholipase D. *Alcohol Alcohol.* 1995, 30, 391–406.
- 4 - Kobayashi M, Kanfer JN (1987) Phosphatidylethanol formation via trans-phosphatidylatation by rat brain synaptosomal phospholipase D. *J Neurochem* 48:1597–1603.
- 5 - Aradottir S, Moller K, Alling C (2004) Phosphatidylethanol formation and degradation in human and rat blood. *Alcohol Alcohol* 2004 39(1):8–13.
- 6 - Varga A, Hansson P, Johnson G, Alling C (2000) Normalization rate and cellular localization of phosphatidylethanol in whole blood from chronic alcoholics. *Clin Chim Acta* 299:141–150.
- 7 - Tóth M. Phosphatidylcholine cycle: an intracellular signaling mechanism in the primordial human placenta. *Acta Physiol Hung.* 1996;84(2):99–108. PubMed PMID: 9046356.
- 8 - Shukla, S.D.; Sun, G.Y.; Wood, W.G.; Savolainen, M.J.; Alling, C.; Hoek, J.B. Ethanol and lipid metabolic signaling. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2001, 25, 335–395
- 9 - Lundqvist, C.; Alling, C.; Aradottir, S.; Gustavsson, L. Agonist-stimulated and basal phosphatidylethanol formation in neutrophils from alcoholics. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 1994, 18, 580–586
- 10 - Gnann, H.; Engelmann, C.; Skopp, G.; Winkler, M.; Auwarter, V.; Dresen, S.; Ferreiros, N.; Wurst, F.M.; Weinmann, W. Identification of 48 homologues of phosphatidylethanol in blood by LC-ESI-MS/MS. *Anal. Bioanal. Chem.* 2010, 396, 2415–2423.
- 11 - Javors MA, Hill-Kapturczak N, Roache JD, Karns-Wright TE, Dougherty DM. Characterization of the pharmacokinetics of phosphatidylethanol 16:0/18:1 and 16:0/18:2 in human whole blood after alcohol consumption in a clinical laboratory study. *Alcohol Clin Exp Res* 2006;40 (6):1228–34.
- 12 - Gnann, H.; Weinmann, W.; Engelmann, C.; Wurst, F.M.; Skopp, G.; Winkler, M.; Thierauf, A.; Auwarter, V.; Dresen, S.; Bouzas, N.F. Selective detection of phosphatidylethanol homologues in blood as biomarkers for alcohol consumption by LC-ESI-MS/MS. *J. Mass Spectrom.* 2009, 44, 1293–1299
- 13 - Hill-Kapturczak N, Dougherty DM, Roache JD, Karns-Wright TE, Javors MA. Differences in the Synthesis and Elimination of Phosphatidylethanol 16:0/18:1 and 16:0/18:2 After Acute Doses of Alcohol. *Alcohol Clin Exp Res.* 2018 May;42(5):851-860. PubMed PMID: 29505133; NIHMSID: NIHMS948405; PubMed Central PMCID: PMC5915873
- 14 - Helander A, MiBöttcher M, Dahmen N., Beck O. Elimination Characteristics of the Alcohol Biomarker Phosphatidylethanol (PEth) in Blood during Alcohol Detoxification. *Alcohol and Alcoholism*, 2019, 54(3) 251–257 doi: 10.1093/alcalc/agz027
- 15 - Lundqvist, C.; Aradottir, S.; Alling, C.; Boyano-Adanez, M.C.; Gustavsson, L. Phosphatidylethanol formation and degradation in brains of acutely and repeatedly ethanol-treated rats. *Neurosci. Lett.* 1994, 179, 127–131.
- 16 - Helander A, Zheng Y. (2009) Molecular species of the alcohol biomarker phosphatidylethanol in human blood measured by LC-MS. *Clin Chem* 55:1395–405.
- 17 - Gnann H, Weinmann W, Thierauf A. Formation of phosphatidylethanol and its subsequent elimination during an extensive drinking experiment over 5 days. *Alcohol Clin Exp Res* 2012;36(9):1507–11
- 18 - Shukla, S.D.; Sun, G.Y.; Wood, W.G.; Savolainen, M.J.; Alling, C.; Hoek, J.B. Ethanol and lipid metabolic signaling. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2001, 25, 335–395

- 19 - Schröck A, Henzi A, Bütikofer P, König S, Weinmann W. Determination of the formation rate of phosphatidylethanol by phospholipase D (PLD) in blood and test of two selective PLD inhibitors. *Alcohol*. 2018 Dec;73:1-7. PubMed PMID: 30103144
- 20 - Luginbühl M, Willem S, Schürch S, Weinmann W. Formation of phosphatidylethanol from endogenous phosphatidylcholines in animal tissues from pig, calf, and goat. *Forensic Sci Int*. 2018 Feb;283:211-218. PubMed PMID: 29324350
- 21 - Kobayashi, M.; Kanfer, J.N. Phosphatidylethanol formation via transphosphatidylation by rat brain synaptosomal phospholipase D. *J. Neurochem*. 1987, 48, 1597–1603.
- 22 - Vinggaard, A.M.; Hansen, H.S. Bradykinin and vasopressin activate phospholipase D in rat Leydig cells by a protein kinase C-dependent mechanism. *J. Endocrinol*. 1993, 136, 119–126.
- 23 - Gustavsson, L. ESBRA 1994 Award Lecture. Phosphatidylethanol formation: specific effects of ethanol mediated via phospholipase D. *Alcohol Alcohol*. 1995, 30, 391–406.
- 24 - Shukla, S.D.; Sun, G.Y.; Wood, W.G.; Savolainen, M.J.; Alling, C.; Hoek, J.B. Ethanol and lipid metabolic signaling. *Alcohol. Clin. Exp. Res*. 2001, 25, 335–395
- 25 - Alling C., Gustavsson L. (1986) Effects of Ethanol on Concentration and Acyl Group Composition of Acidic Phospholipids. In: Horrocks L.A., Freysz L., Toffano G. (eds) *Phospholipid Research and the Nervous System*. FIDIA Research Series, vol 4. Springer, New York,
- 26 - Stenton J, Walther L, Hansson T, Andersson A, Isaksson A. Inter Individual Variation and Factors Regulating the Formation of Phosphatidylethanol. *Alcohol Clin Exp Res*. 2019 Nov;43(11):2322-2331. doi: 10.1111/acer.14195. Epub 2019 Sep 27. PubMed PMID: 31509266.
- 27 - Augsburg M; Lauer E. Sporkert, F; Déglon, J. (2019). "Doctor, I do not understand the results of the test, because I swear I am not drinking alcohol." Truth or lie?. *Toxicologie Analytique et Clinique*. 31. S51. 10.1016/j.toxac.2019.03.072.
- 28 - Stove C, Spooner N. DBS and beyond. *Bioanalysis*. 2015;7(16):1961-1962. doi:10.4155/bio.15.139
- 29 - Bakhireva LN, Shrestha S, Gutierrez HL, Berry M, Schmitt C, Sarangarm D. Stability of Phosphatidylethanol in Dry Blood Spot Cards. *Alcohol Alcohol*. 2016 May;51(3):275-80. doi: 10.1093/alcalc/agg120. Epub 2015 Oct 29. PMID: 26519350; PMCID: PMC4830409.
- 30 - Beck O, Kenan Modén N, Seferaj S, Lenk G, Helander A. Study of measurement of the alcohol biomarker phosphatidylethanol (PEth) in dried blood spot (DBS) samples and application of a volumetric DBS device. *Clin Chim Acta*. 2018;479:38-42. doi:10.1016/j.cca.2018.01.008
- 31 - Helander A, Hermansson U, Beck O. Dose-Response Characteristics of the Alcohol Biomarker Phosphatidylethanol (PEth)-A Study of Outpatients in Treatment for Reduced Drinking. *Alcohol Alcohol*. 2019 Dec 1;54(6):567-573. doi: 10.1093/alcalc/agg064. PMID: 31529064.
- 32 - Kummer N, Wille SM, Poll A, Lambert WE, Samyn N, et al. Quantification of EtG in hair, EtG and EtS in urine and PEth species in capillary dried blood spots to assess the alcohol consumption in driver's licence regranting cases. *Drug Alcohol Depend*. 2016 Aug 1;165:191-7. PubMed PMID: 27364378.
- 33 - Ulwelling W, Smith K. The PEth Blood Test in the Security Environment: What it is; Why it is Important; and Interpretative Guidelines. *J Forensic Sci*. 2018 Nov;63(6):1634-1640. PubMed PMID: 30005144.
- 34 - Andresen-Streichert H, Müller A, Glahn A, Skopp G, Sterneck M. Alcohol Biomarkers in Clinical and Forensic Contexts. *Dtsch Arztebl Int*. 2018 May 4;115(18):309-315. doi: 10.3238/arztebl.2018.0309. PMID: 29807559; PMCID: PMC5987059.
- 35 - Isaksson A, Walther L, Alling C, Hansson T. [Phosphatidylethanol in blood (B-PEth)--a new marker of alcohol abuse]. *Lakartidningen*. 2009 Apr 7-21;106(15-16):1094-8. PubMed PMID: 19492676
- 36 - Kechagias S, Dernroth DN, Blomgren A, Hansson T, Isaksson A, Walther L, et al. Phosphatidylethanol compared with other blood tests as a biomarker of moderate alcohol consumption in healthy volunteers: a prospective randomized study. *Alcohol Alcohol* 2015;50(4):399–406

- 37 - Wurst, F.M.; Thon, N.; Aradottir, S.; Hartmann, S.; Wiesbeck, G.A.; Lesch, O.; Skala, K.; Wolfersdorf, M.; Weinmann, W.; Alling, C. Phosphatidylethanol: Normalization during detoxification, gender aspects and correlation with other biomarkers and self-reports. *Addict. Biol.* 2010, 15, 88–95.
- 38 - Maxwell S, Thompson S, Zakko F, Bracero LA. Screening for prenatal alcohol exposure and corresponding short-term neonatal outcomes. *Reprod Toxicol.* 2019 Apr;85:6-11. doi: 10.1016/j.reprotox.2019.01.009. Epub 2019 Jan 18. PubMed PMID: 30664987.
- 39 - May PA, Hasken JM, De Vries MM, et al. A utilitarian comparison of two alcohol use biomarkers with self-reported drinking history collected in antenatal clinics. *Reprod Toxicol.* 2018 Apr;77:25-32. doi: 10.1016/j.reprotox.2018.02.002. Epub 2018 Feb 6. PubMed PMID: 29425712; PubMed Central PMCID: PMC5878131.
- 40 - Bracero LA, Maxwell S, Nyanin A, et al. Improving screening for alcohol consumption during pregnancy with phosphatidylethanol. *Reprod Toxicol.* 2017 Dec;74:104-107. doi: 10.1016/j.reprotox.2017.09.007. Epub 2017 Sep 19. PubMed PMID: 28939493.
- 41 - Bakhireva L.N. Sharkis J. Shrestha S. et al. Prevalence of prenatal alcohol exposure in the state of Texas as assessed by phosphatidylethanol in newborn dried blood spot specimens, *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 41 (May (5)) (2017) 1004–1011
- 42 - Yang, J.Y., Kwak, H.S., Han, J.Y., Choi, J.S., Ahn, H.K., Oh, Y.J., Velazquez-Armenta, E.Y., Nava-Ocampo, A.A., 2015. Could a first-trimester blood phosphatidylethanol concentration 4 nM be useful to identify women with moderate-to-heavy prenatal alcohol exposure who are at high risk of adverse pregnancy outcomes? *Med. Hypotheses* 85 (6), 965–968
- 43 - Neumann J, Beck O, Helander A, Böttcher M. Performance of PEth Compared With Other Alcohol Biomarkers in Subjects Presenting For Occupational and Pre-Employment Medical Examination. *Alcohol Alcohol.* 2020;55(4):401-408. doi:10.1093/alcalc/agaa027
- 44 - Hartmann S, Aradottir S, Graf M, Wiesbeck G, Lesch O, et al. Phosphatidylethanol as a sensitive and specific biomarker: comparison with gamma-glutamyl transpeptidase, mean corpuscular volume and carbohydrate-deficient transferrin. *Addict Biol.* 2007 Mar;12(1):81-4. PubMed PMID: 17407500.
- 45 - Wurst, F.M.; Thon, N.; Weinmann, W.; Tippett, S.; Marques, P.; Hahn, J.A.; Alling, C.; Aradottir, S.; Hartmann, S.; Lakshman, R. Characterization of sialic acid index of plasma apolipoprotein J and phosphatidylethanol during alcohol detoxification—A pilot study. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2012, 36, 251–257.

# Le phosphatidyléthanol en pratique

## Tableaux et graphes

### Tableau 1

#### PEth, spécificité

Les mesures du PEth dans des situations pathologiques, au cours de traitements potentiellement perturbateurs, chez des personnes se déclarant abstinentes au cours d'actions judiciaires. Notre expérience confirme la spécificité du PEth lié aux usages de l'alcool.

	Pathologie	Traitement	ASAT	ALAT	GGT	PEth	UA	audit	Après ttt
<b>Y</b>	Hépatite C chronique active	Bithérapie AVD	Nx4	Nx2	Nx2	<b>126</b>	<b>4</b>	<b>13</b>	PETH 80, bila hépat NI
<b>Z</b>	Métastases foie péritoniques	Chimiothérapie	Nx10	Nx10	Nx10	0	0	0	Décès
<b>W</b>	Hypertension artérielle	Statine-IEC	N	N	N	0	0	0	RAS
<b>N- -J-0 9/19</b>	Attestation en Justice	Personnalité limite	CDT 0,9%	26	33	340	0	0	"consommation / fête"
<b>N - J-60 (1/20)</b>	Attestation en Justice	Personnalité limite	CDT 1,2%	30	32	210	0	0	Idem
<b>M</b>	Attestation en Justice	Demande une preuve	N	N	N	0	0	0	abstinence démontrée

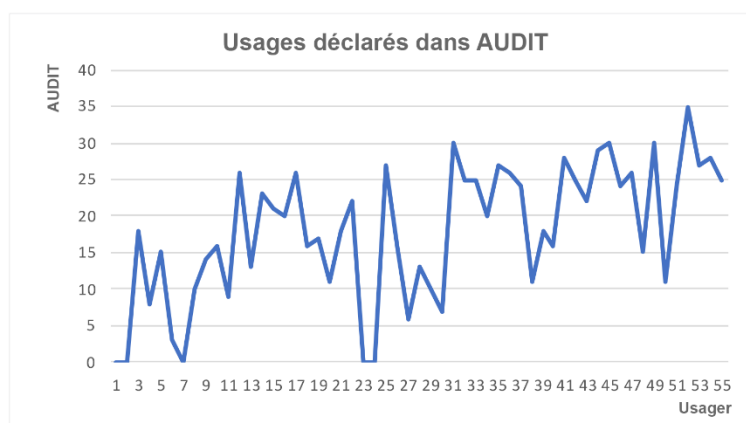
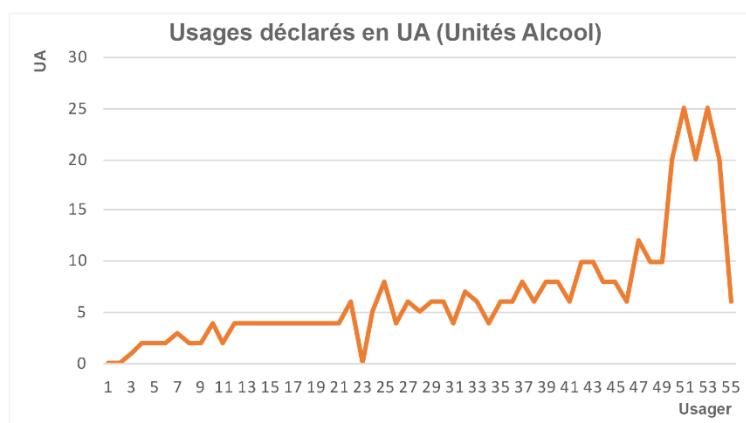
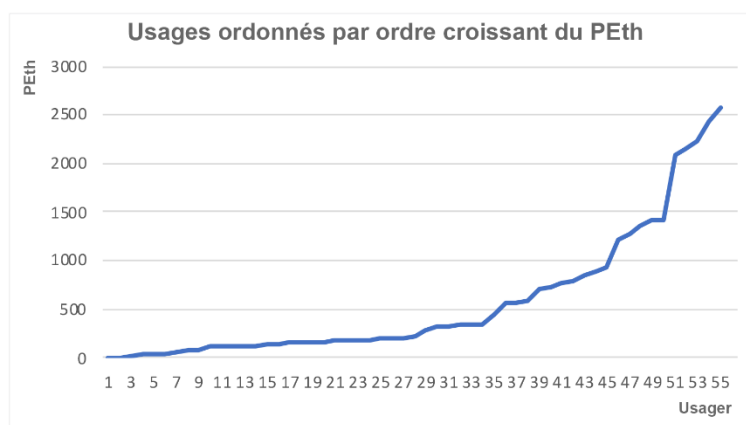
## Tableau et graphes 2

### PEth, sensibilité, corrélation avec les consommations déclarées

Les usagers, ordonnés par ordre croissants de PEth. Résultats du PEth conformes à la situation clinique ; confirment les aléas des déclarations des usages de l'alcool.

Les « sujets » 7 et 23, étaient en situation de sevrage. Les PEth restent détectables jusqu'à 8 semaines après des usages excessifs.

Abs	Sujet	Peth	UA/Jr	AUDIT
1	22	0	0	0
2	54	0	0	0
3	7	29	1	18
4	23	36	2	8
5	41	40	2	15
6	8	46	2	3
7	55	56	3	0
8	4	81	2	10
9	7	81	2	14
10	15	114	4	16
11	3	117	2	9
12	33	120	4	26
13	16	126	4	13
14	40	127	4	23
15	30	145	4	21
16	35	147	4	20
17	48	152	4	26
18	21	160	4	16
19	14	170	4	17
20	47	170	4	11
21	9	175	4	18
22	38	176	6	22
23	1	180	0	0
24	52	190	5	0
25	39	195	8	27
26	25	205	4	16
27	50	210	6	6
28	36	215	5	13
29	51	281	6	10
30	37	318	6	7
31	10	330	4	30
32	24	340	7	25
33	32	344	6	25
34	13	351	4	20
35	11	437	6	27
36	45	562	6	26
37	53	576	8	24
38	12	585	6	11
39	20	706	8	18
40	42	726	8	16
41	43	765	6	28
42	2	800	10	25
43	34	861	10	22
44	5	899	8	29
45	31	923	8	30
46	6	1220	6	24
47	44	1275	12	26
48	18	1363	10	15
49	28	1413	10	30
50	46	1414	20	11
51	49	2097	25	24
52	26	2139	20	35
53	27	2237	25	27
54	19	2432	20	28
55	29	2566	6	25



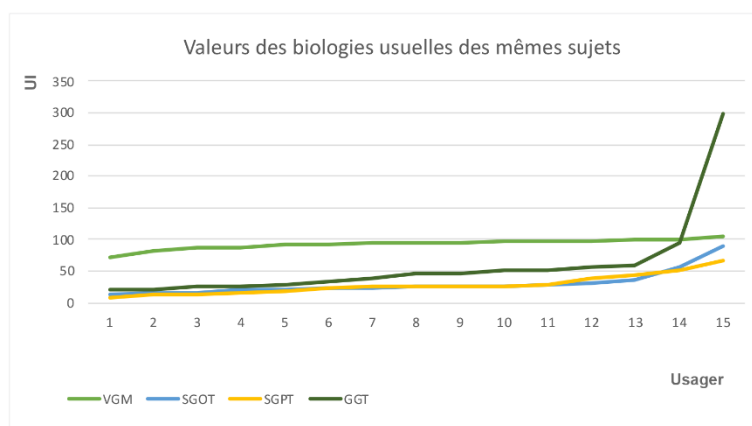
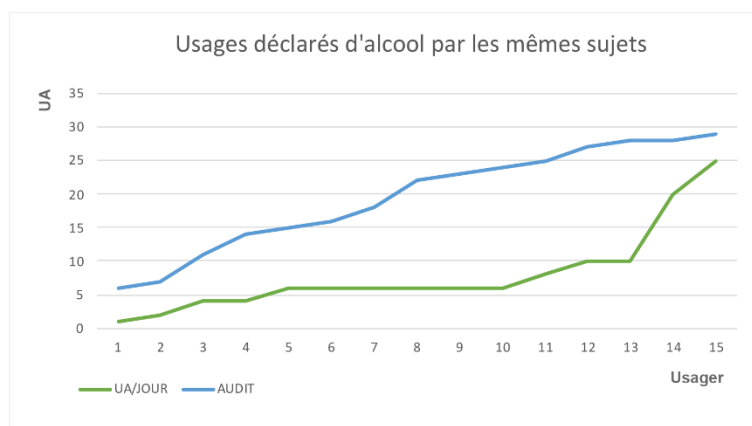
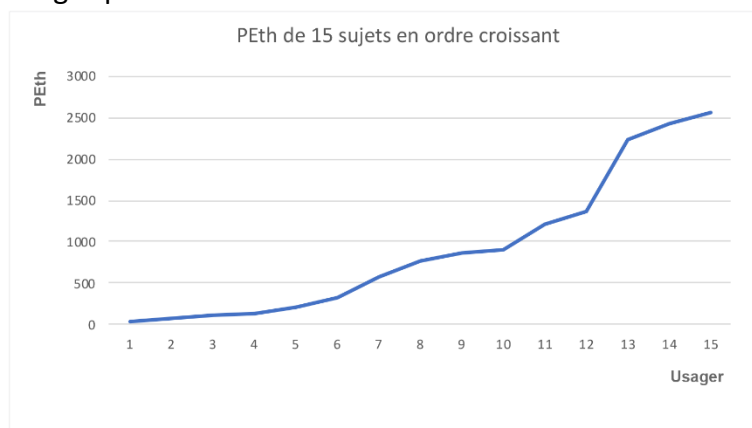
## Tableau et graphes 3

### PEth et marqueurs indirects des usages de l'alcool

Dans 15 dossiers, nous disposons des mesures biologiques conventionnelles (ASAT, ALAT, GGT). Ces marqueurs biologiques sont peu sensibles comparés au PEth pour évaluer les usages de l'alcool.

NM	PETH	UA/JOUR	AUDIT	VGM	ASAT	ALAT	GGT
moyennes	920	8	20	92	30	28	60
extrêmes	29-2566	1-25	6-29	71-105	14-89	9-67	21-298

#### Usagés par ordre croissant du PEth



## Tableau et graphe 4

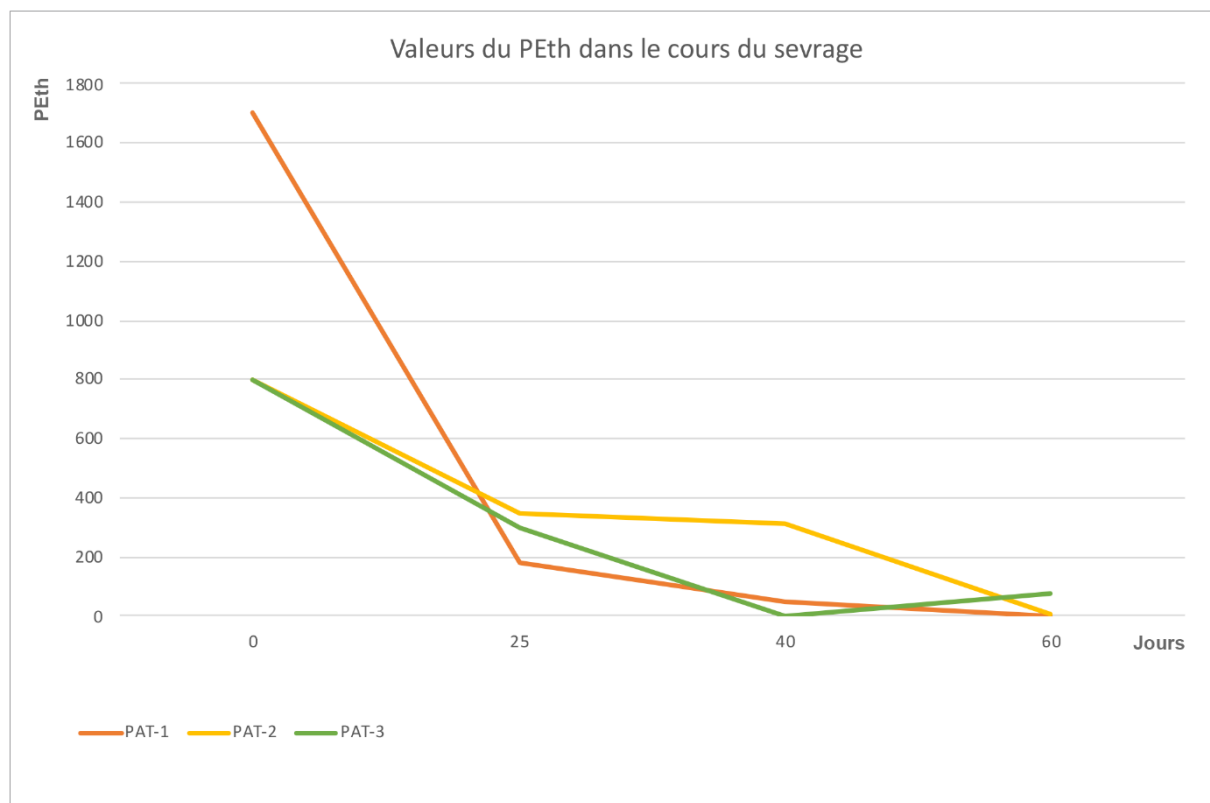
### Durée de vie du PEth en situation de sevrage

**PAT-1**, consommation 15/UA jour depuis des années, consulte 3 jours après décision de sevrage. Amélioration clinique corrélée à la courbe du PEth.

**PAT-2**, Binje-drinking, prélèvement 0 une semaine après un épisode. Entre ces crises, 0 à 6 UA/semaine. Le PEth suit ces fluctuations.

**PAT-3**, consommation moyenne 6 UA/jour, au décours d'une hospitalisation avec sevrage, reprise des consommations 3 UA/jour depuis une semaine.

Jours	PAT-1	PAT-2	PAT-3
0	1700	800	800
25	180	350	300
40	45	309	0
60	0	5	77





## Tableau 5

### Stabilité des échantillons secs (Dry Blood Spot - DBS)

Contrôles de conservation et stabilité des échantillons secs, prélevés sur des VAMS.

Conservation à température ambiante, sans précaution, 2 à 8 mois.

Différence des PEth en moyenne : 15%.

Date PEth-1	Mois	PEth-1	PEth-2 13-02-20
19/11/2019	3	40	88
26/09/2019	5	147	178
25/11/2019	3	152	341
22/11/2019	3	170	199
20/12/2019	2	336	258
27/06/2019	8	350	<b>602</b>
16/11/2019	3	562	870
11/06/2019	8	757	<b>722</b>
08/06/2019	8	1260	<b>1109</b>