

Nouveaux marqueurs biologiques de la consommation d'alcool

Drs ADRIANA ANGULO AGUILAR^a, LAURA BAMERT^a, FRANK SPORKERT^b et NICOLAS BERTHOLET^a

Rev Med Suisse 2019; 15: 1173-6

Estimer la consommation d'alcool en se basant sur des tests biologiques pose des problèmes d'interprétation. Les marqueurs actuellement utilisés en clinique (CDT et transaminases) présentent des performances limitées pour l'identification du mésusage d'alcool. Des nouveaux marqueurs directs, l'éthylglucuronide (EtG) et le phosphatidyléthanol (PEth), sont à disposition et offrent de meilleures performances en termes de sensibilité et spécificité que les marqueurs indirects. Ils sont principalement utilisés dans le cadre de suivis médico-légaux et remplacent les marqueurs indirects. En pratique clinique, l'EtG et le PEth ne sont que peu utilisés. On voit apparaître l'utilisation de ces tests dans le cadre d'évaluations spécifiques, par exemple avant transplantation hépatique.

New biomarkers of alcohol use

Estimating alcohol consumption using biomarkers raises interpretation problems. The biomarkers currently used in clinical settings have limited performances to identify unhealthy alcohol use (e.g. CDT, AST, ALT). New direct biomarkers, ethylglucuronide (EtG) and phosphatidylethanol (PEth) are available and offer better sensitivity and specificity compared to indirect biomarkers. In forensic medicine, EtG and PEth are replacing indirect biomarkers. However, in clinical routine practice these markers are usually not considered. Still, for specific purposes such in pre-liver transplant evaluations, direct markers may help specialists in the decision process.

INTRODUCTION

La consommation d'alcool est un facteur de risque important de morbidité et mortalité.^{1,2} Dans certaines situations cliniques ou médico-légales, les professionnels de la santé sont amenés à interpréter des examens de laboratoire visant à identifier ou exclure une consommation d'alcool. Cette dernière peut être évaluée au plan biologique à l'aide de marqueurs indirects, reflétant des processus biologiques influencés par la consommation d'alcool.

Les marqueurs biologiques indirects sont largement utilisés en clinique pour évaluer la consommation d'alcool et peuvent fournir des informations utiles. Toutefois, leurs sensibilité et spécificité sont en général faibles. Les marqueurs biologiques indirects de la consommation d'alcool disponibles et utilisés en clinique à l'heure actuelle comprennent des enzymes ou des cellules subissant des modifications typiques en réponse

à une consommation aiguë ou chronique d'alcool. Il s'agit par exemple de la transferrine carboxydéficiente (CDT pour carbohydrate deficient transferrine), de la gamma-glutamyl-transférase (GGT), de l'aspartate aminotransférase (ASAT), de l'alanine aminotransférase (ALAT) ou du volume corpusculaire moyen (MCV). Pour ces marqueurs, d'autres processus biologiques sans lien avec la consommation d'alcool sont susceptibles d'influencer les résultats, limitant dès lors leurs sensibilité et spécificité. De plus, des consommations répétées et importantes peuvent également ne pas être détectées chez certains sujets, la variabilité interindividuelle étant importante. Cela est à considérer à plus forte raison quand une estimation de la consommation d'un patient se base sur une analyse unique.

Quant aux marqueurs directs utilisés en pratique clinique, telle la mesure de l'éthanol dans le sang ou dans l'air expiré, ils offrent une fenêtre d'observation limitée qui ne permet pas d'évaluer la présence d'une consommation d'alcool au-delà de quelques heures. Cette situation souligne la nécessité d'améliorer les méthodes de détection utilisées, notamment dans le contexte des évaluations médico-légales.

Nous observons un changement récent avec l'introduction de nouveaux marqueurs directs de la consommation d'alcool. Ce sont des molécules générées lorsque l'éthanol est métabolisé ou réagit avec des substances dans le corps. Cet article se focalise sur deux nouveaux marqueurs: l'éthylglucuronide (EtG) et le phosphatidyléthanol (PEth) et leurs caractéristiques différentes en lien avec le prélèvement et les seuils d'analyse. Ces marqueurs biologiques directs de la consommation d'alcool ne sont pas utilisés en routine clinique à l'heure actuelle. Leur utilisation se fait principalement dans un contexte médico-légal, dans le but de vérifier une abstinence ou d'exclure un mésusage d'alcool.

En clinique, les médecins sont souvent intéressés à évaluer la consommation d'alcool de leurs patients dans une optique d'identification d'un mésusage d'alcool. Dans ces cas, avant tout test biologique, une discussion ouverte sur la consommation actuelle et l'emploi de questionnaires de dépistage validés (tels que l'AUDIT: Alcohol Use Disorder Identification test) devraient être préférés. En effet, court-circuiter l'évaluation de la consommation par un test biologique ne permettra probablement pas de mettre en place les conditions nécessaires à une intervention et à une discussion avec le patient. En revanche, ces marqueurs hautement sensibles et spécifiques peuvent aider le soignant à lever l'ambiguïté de situations où les marqueurs indirects classiques sont perturbés et lorsqu'il existe une suspicion de mésusage d'alcool sans confirmation anamnétique.

^a Service de médecine des addictions, Département de psychiatrie, CHUV, 1011 Lausanne, ^b Unité de toxicologie et chimie forensiques, Centre universitaire romand de médecine légale, Ch. de la Vulliette 4, 1000 Lausanne adriana.angulo-aguilard@chuv.ch

ÉTHYLGLUCURONIDE

L'EtG est un produit direct du métabolisme non oxydatif (phase II, glucuroconjugaison) de l'alcool éthylique (éthanol) avec de l'acide glucuronique. On ne connaît aucune autre substance que l'éthanol pouvant générer de l'EtG après absorption. Il peut être mesuré dans les cheveux, dans l'urine, ou le sang.

EtG dans les cheveux (EtG capillaire)

On estime que l'EtG est incorporé aux cheveux par les vaisseaux sanguins au niveau du bulbe, mais aussi par la sueur et le sébum. La quantité d'EtG incorporée dans les cheveux ne dépend pas de la couleur naturelle des cheveux, c'est-à-dire que les cheveux blancs et pigmentés incorporent l'EtG de la même manière.³ En revanche, les traitements cosmétiques peuvent détruire ou éliminer une partie de l'EtG déjà incorporé et influencer les résultats.⁴ A ce jour, aucune pathologie pouvant perturber ce marqueur n'a été mise en évidence.

L'analyse se fait sur des segments proximaux de cheveux, de 3 à 6 cm de longueur. Si un changement significatif de la quantité d'alcool consommé intervient pendant la période couverte par l'analyse, il est recommandé de faire une segmentation de la mèche, conforme aux indications de la personne en tenant compte d'une vitesse moyenne de croissance des cheveux de 1 cm/mois. Sur 3 cm, l'analyse EtG se réfère donc à une consommation d'alcool pendant les 3 mois précédents. Une segmentation de la mèche peut restreindre ultérieurement la fenêtre de détection. En l'absence de cheveux, il est possible de procéder à une analyse sur des poils, notamment ceux des bras ou du thorax. Cependant, la littérature sur ce type d'analyse est peu nombreuse, et l'interprétation des résultats est plus délicate en raison du fait qu'une grande partie des poils est en phase de repos.

La corrélation entre la quantité d'alcool consommée et la concentration d'EtG dans les cheveux varie selon les publications.⁴ Selon le consensus de la Society of hair testing (SoHT) de 2016:⁵ le résultat indique: a) une abstinence (< 7 pg/mg); b) une consommation (entre 7 et 30 pg/mg, ce qui correspond à < 420 g d'éthanol par semaine) et c) une consommation excessive et chronique⁶ (> 30 pg/mg, ce qui correspond à > 420 g d'éthanol par semaine) (**tableau 1**). L'EtG capillaire

TABLEAU 1		Interprétation des concentrations d'EtG capillaire
Echelle	Interprétation	
EtG < LOD	<ul style="list-style-type: none"> • Ethylglucuronide non détecté • Le résultat ne contredit pas une abstinence 	
LOD ≤ EtG < 7 pg/mg	<ul style="list-style-type: none"> • Ethylglucuronide détecté • Le résultat ne fournit aucune preuve d'une consommation régulière d'alcool 	
7 pg/mg ≤ EtG < 30 pg/mg	<ul style="list-style-type: none"> • Ethylglucuronide détecté • La valeur parle en faveur d'une consommation d'alcool modérée (< 420 g d'éthanol par semaine) 	
EtG ≥ 30 pg/mg	<ul style="list-style-type: none"> • Ethylglucuronide détecté • La valeur parle en faveur d'une consommation d'alcool abusive (> 420 g d'éthanol par semaine) 	

LOD: limite de détection; EtG: éthylglucuronide.

peut être analysé dans l'un des sept instituts médico-légaux de la Suisse et dans certains laboratoires privés.

EtG dans l'urine

L'EtG urinaire est un marqueur fiable, mais son utilisation est limitée par sa fenêtre de détection restreinte. Il est détectable dans l'urine déjà après consommation d'un verre standard (10-12 g d'éthanol), et jusqu'à 4 jours après la consommation, et cela même après l'élimination de l'éthanol dans l'urine.⁶ Le seuil de détection pour un test positif varie entre 100 et 500 ng/ml.⁷ Il faut connaître le rapport EtG/créatinine pour corriger l'effet de la dilution, comme pour d'autres dosages pratiqués dans l'urine.⁷

EtG dans le sang

La fenêtre étant serrée (détectable au maximum 10 heures après l'élimination de l'éthanol), elle limite son utilisation comme marqueur sanguin à peu de questions cliniques ou médico-légales.

Aptitude à la conduite

Selon le tribunal fédéral (TF) suisse, l'EtG capillaire est un marqueur adapté pour contrôler une abstinence d'alcool (TF 6A.8/2007 du 1.5.2007).⁸ Lors d'une expertise en vue d'évaluer l'aptitude à la conduite suite à un retrait du permis de conduire, une recherche d'EtG capillaire peut donc être effectuée. La mesure de la concentration d'EtG dans les cheveux est aussi utilisée dans les suivis après la restitution du permis quand le droit de conduire est soumis au respect d'une abstinence. Toutefois, l'analyse de cheveux constitue un examen complémentaire qui doit être évalué dans un contexte global, incluant l'ensemble des aspects et résultats pertinents pour l'expertise d'aptitude à conduire ou pour le maintien du droit de conduire.⁸

Les tests effectués afin d'attester d'une abstinence dans le cadre de mandats médico-légaux ne peuvent pas être à charge de l'assurance maladie. Les coûts sont à charge de l'intéressé (prélèvement et analyse) pour ce qui concerne le canton de Vaud. Selon le canton, les prélèvements sont à effectuer tous les trois ou six mois.

Dans le cadre d'une transplantation hépatique

Les associations européenne et américaine pour l'étude des maladies du foie, l'European Association for the Study of the Liver (EASL) et l'American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD), préconisent l'utilisation des biomarqueurs indirects (CDT, GGT, ASAT, ALAT et MCV) pour la détection d'une consommation d'éthanol de plus de 30 g par jour. Toutefois, ces marqueurs ne présentent pas la sensibilité nécessaire pour ces quantités d'éthanol et sont d'autant moins sensibles en présence de pathologies hépatiques. En Allemagne, la Bundesärztekammer a adopté, comme critère pour mise en liste de transplantation, la démonstration d'une abstinence qui peut être contrôlée par l'EtG capillaire et urinaire en cas de suspicions de consommation.⁹ En Suisse, il n'y a pas encore de consensus sur l'utilisation d'EtG dans le cadre d'une évaluation avant transplantation hépatique.

TABLEAU 2 Caractéristiques de l'ETG, du PEth et de la CDT pour l'identification d'un mésusage d'alcool

EtG: éthylglucuronide; PEth: phosphatidyléthanol; CDT: transferrine carboxydéficente; Method HPLC: high performance liquid chromatography.

Marqueur	Seuil	Fenêtre de détection	Spécificité	Sensibilité
PEth (sang)	<ul style="list-style-type: none"> Absence de consommation: < 20 ng/ml Consommation excessive: > 210 ng/ml 	2-4 semaines	98-100%	86-100%
EtG (cheveux)	<ul style="list-style-type: none"> Absence de consommation: < 7 pg/mg Consommation excessive: > 30 pg/mg 	Jusqu'à 6 mois	93%	81%
CDT (sérum) Méth HPLC	<ul style="list-style-type: none"> Absence de consommation: < 1,1% Consommation excessive: > 2,5% 	2 semaines	88%	77%

(D'après réf.¹⁸).

PHOSPHATIDYLÉTHANOL

Ce nouveau marqueur a été découvert en 1980¹⁰ et est de plus en plus utilisé depuis 2018, sans toutefois remplacer l'EtG capillaire. En Suisse romande, il est analysé pour l'instant exclusivement à l'Unité de toxicologie et de chimie forensiques du Centre universitaire romand de médecine légale (CURML) du CHUV et des HUG.

Le PEth est un métabolite direct qui se forme au niveau des membranes cellulaires des érythrocytes uniquement en présence d'éthanol sous l'action d'une enzyme, la phospholipase D (PLD).^a

In vitro, lors de l'incubation d'éthanol dans du sang pendant 24 heures, il a été observé d'une part la formation du PEth et, d'autre part, que la quantité de PEth produite est directement proportionnelle à la concentration d'éthanol présent. Le temps nécessaire à la formation du PEth (environ 30 minutes après consommation) est plus court que celui de son élimination, mais le mécanisme moléculaire d'élimination n'est pas encore complètement éclairci. Les taux d'élimination du PEth semblent varier considérablement.¹¹ Sa demi-vie varie entre 3 et 10 jours après la prise d'alcool et offre une fenêtre de détection de 2 à 4 semaines en fonction de la quantité et de la fréquence de consommation. C'est un marqueur de consommation qui montre donc de meilleures sensibilité et spécificité que la CDT, la GGT ou le MCV (tableau 2).¹²

Le PEth est significativement plus élevé chez les personnes consommant des quantités d'alcool importantes par rapport aux abstinents et à ceux ayant une consommation modérée (≤ 3 verres standard maximum 1 à 2 fois/semaine pour les hommes, ≤ 2 verres standard maximum 1 à 2 fois/semaine pour les femmes dans les dernières 5 années), et les taux sont corrélés avec le score AUDIT, un questionnaire auto-administré permettant l'identification d'une consommation d'alcool problématique. Le PEth est suffisamment sensible pour mettre en évidence une consommation de type «à risque épisodique» (≥ 5 verres standard/occasion ou en 2 heures pendant les 30 derniers jours pour les hommes, ≥ 4 verres standard/occasion ou en 2 heures pendant les 30 derniers

jours pour les femmes).¹³ Dans la mesure où le PEth s'accumule après une consommation répétée dans le temps, il est utile pour détecter une consommation excessive et chronique d'alcool.¹¹ Le PEth n'est pas influencé par l'âge, le sexe, d'autres substances ingérées ou l'hypertension et les maladies rénales et/ou hépatiques,¹⁴ mais à l'heure actuelle, il n'est pas possible d'écarter la possibilité que ce marqueur soit influencé par d'autres pathologies ou problèmes métaboliques.

Le PEth est instable dans un tube de sang laissé à température ambiante ou au réfrigérateur (+ 4°C) et une perte de 60% peut être observée dans un tube de sang après 48 heures.¹⁵ En revanche, il est stable dès que l'échantillon de sang est déposé sur du papier buvard «dried blood spots» (DBS). Les échantillons sanguins peuvent être prélevés à l'aide d'un dispositif microfluidique (par exemple, HemaXis DB Whole Blood collection device) afin de standardiser le volume de sang déposé sur le papier filtre, dans le cas précis 10 microlitres par spot. Cette méthode permet de stabiliser le PEth sur une période d'au moins 6 mois sans recours à une chaîne du froid.¹⁶ L'optimisation préanalytique permet d'effectuer les prélèvements DBS directement au cabinet et de les envoyer dans une simple enveloppe au laboratoire. Le coût de l'analyse pour ce test, dont le prélèvement s'effectue au bout du doigt, par spectrométrie de masse (LC-MS/MS), est comparable à celui des marqueurs indirects, prélèvement exclu.

Ce test semble donc prometteur, cependant plusieurs études doivent être menées pour mieux appréhender les différences interindividuelles¹⁷ et établir les seuils de détection correspondant à la quantité d'alcool consommée.

COMPARAISONS ENTRE PETH ET ETG

Il existe des différences mineures entre le PEth et l'EtG en raison des différentes fenêtres de détection et des matrices d'analyse (PEth: sang; EtG: cheveux). Comme le PEth a une fenêtre de détection plus courte (environ 2-4 semaines) que l'EtG (plusieurs mois en fonction de la longueur des cheveux), les changements de consommation d'alcool peuvent être détectés plus tôt par le PEth que par la seule analyse de l'EtG.

Si une mesure d'une consommation récente est nécessaire, le PEth peut être détecté directement dans le sang quelques heures après l'ingestion d'alcool, alors que l'EtG, parce qu'il doit être incorporé dans le bulbe pileux, ne sera détectable que de façon différée.

^a En présence d'éthanol, la PLD favorise une réaction de transphosphatidylolation, aboutissant à la formation du PEth. L'homologue le plus important est le PEth 16:0/18:1 se référant aux deux acides gras, l'acide palmitique et l'acide oléique qu'il porte dans la molécule. Il représente environ 40% de tous les homologues de la même famille.

CONCLUSION

Identifier un mésusage d'alcool à l'aide de marqueurs biologiques reste compliqué même avec des marqueurs directs. L'EtG et le PEth présentent des sensibilité et spécificité presque optimales, cependant, l'interprétation des taux de ces marqueurs reste délicate. A l'heure actuelle, ils sont principalement utiles pour confirmer une abstinence ou pour écarter une consommation excessive et chronique. Pour l'EtG capillaire, de nombreuses études existent sur la variabilité interindividuelle et la corrélation entre les seuils de détection et la consommation d'alcool. Les seuils définis reposent donc sur un corpus scientifique plutôt étendu. Par contre, pour le PEth, davantage de données sont nécessaires, notamment pour déterminer quel seuil tient compte d'une exposition à l'éthanol autre que celle d'une boisson alcoolisée (sirop pour la toux, rinçage de bouche). Il est aussi nécessaire de mieux déterminer la corrélation entre la quantité d'alcool consommée et le taux de PEth correspondant. Il manque notamment des données sur les taux de PEth associés à une consommation d'alcool ne présentant pas ou peu de risques pour la santé.

Conflit d'intérêts: Les auteurs n'ont déclaré aucun conflit d'intérêts en relation avec cet article.

IMPLICATIONS PRATIQUES

- L'EtG (éthylglucuronide) et le PEth (phosphatidyléthanol) sont de nouveaux marqueurs directs de la consommation d'alcool, qui offrent des meilleures performances que les tests indirects en termes de sensibilité et spécificité, avec différentes fenêtres de détection
- L'EtG et le PEth ne sont pour le moment que peu utilisés en pratique clinique. A l'heure actuelle, ils le sont principalement dans le cadre de suivis médico-légaux
- L'utilisation de l'EtG et/ou du PEth peut être envisagée dans des situations cliniques où les valeurs biologiques permettent de conduire le traitement de manière optimale, par exemple au moment d'introduire un traitement médicamenteux ayant des interactions dangereuses avec la consommation d'alcool

1 ** Whiteford HA, Degenhardt L, Rehm J, et al. Global burden of disease attributable to mental and substance use disorders: findings from the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* 2013;382:1575-86.
 2 Collaborators GBDA. Alcohol use and burden for 195 countries and territories, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet* 2018;392: 1015-35.
 3 Kharbouch H, Steiner N, Morelato M, et al. Influence of ethanol dose and pigmentation on the incorporation of ethyl glucuronide into rat hair. *Alcohol* 2010;44: 507-14.
 4 ** Cabarcos P, Álvarez I, Taberner MJ, et al. Determination of direct alcohol markers: a review. *Anal Bioanal Chem* 2015;407:4907-25.
 5 Pragst F, Suesse S, Salomone A, et al. Commentary on current changes of the SoHT 2016 consensus on alcohol markers

in hair and further background information. *Forensic Sci Int* 2017;278:326-33.
 6 * Wurst FM, Skipper GE, Weinmann W. Ethyl glucuronide the direct ethanol metabolite on the threshold from science to routine use. *Addiction* 2003;98:51-61.
 7 * Substance abuse and mental health service administration (samsha) advisory. The role of biomarkers in the treatment of alcohol use disorders. 2012 Revision;11.
 8 * Société suisse de médecine légale (SSML). Détermination de l'Éthylglucuronide (EtG) dans les cheveux. 2014. www.sgrm.ch/uploads/media/EtG.
 9 Richtlinien zur Organtransplantation gem. § 16 TPG. *Dtsch Arztebl* 2017;114:A-1019 / B-847 / C-829.
 10 Alling C, Gustavsson L, Anggard E. An abnormal phospholipid in rat organs after ethanol treatment. *FEBS Lett* 1983;152:24-8.
 11 ** Schröck A, Pfäffli M, König S,

Weinmann W. Application of phosphatidylethanol (PEth) in whole blood in comparison to ethyl glucuronide in hair (hEtG) in driving aptitud assessment (DAA). *Int J Legal Med* 2016;130:1527-33.
 12 Hartmann S, Aradottir S, Graf M, et al. Phosphatidylethanol as a sensitive and specific biomarker – comparison with gamma-glutamyl transpeptidase, mean corpuscular volume and carbohydrate-deficient transferrin. *Addict Biol* 2007;12:81-4.
 13 Piano MR, Tiwari S, Nevorol L, Phillips SA. Phosphatidylethanol levels are elevated and correlate strongly with AUDIT scores in young adult binge drinkers. *Alcohol Alcohol* 2015;50:519-25.
 14 Stewart SH, Reuben A, Brzezinski WA, et al. Preliminary evaluation of phosphatidylethanol and alcohol consumption in patients with liver disease and hypertension. *Alcohol Alcohol* 2009;44:464-7.
 15 Faller A, Richter B, Kluge M, et al.

Stability of phosphatidylethanol species in spiked and authentic whole blood and matching dried blood spots. *Int J Legal Med* 2013;127:601-10.
 16 * Déglon J, Lauer E, Sporkert F, et al. Analyse du phosphatidyléthanol sur micro-prélèvement de sang séché: nouvel outil pour le suivi de la consommation d'alcool. *Toxicol Anal Clin* 2018;30:S42-3.
 17 Simon TW. Providing context for phosphatidylethanol as a biomarker of alcohol consumption with a pharmacokinetic model. *Regul Toxicol Pharmacol* 2018;94:163-71.
 18 ** Donzé N, Augsburg M. Le phosphatidyléthanol: un nouveau marqueur de la consommation d'éthanol. *Caduceus Express* 2018;20.

* à lire
 ** à lire absolument