

Dosage sanguin du phosphatidyléthanol

Phosphatidylethanol blood analysis

Florian Hakim^{1,2}
Jean-François Wiart¹
Olivier Ménard³
Delphine Allorge^{1,2}
Jean-Michel Gaulier^{1,2}

¹ CHU Lille, Unité fonctionnelle de toxicologie, Lille France

² Université Lille, EA 4483 – IMPECS – Impact de l'environnement chimique sur la santé humaine, Lille France

³ CHU Lille, Service d'addictologie, Lille France

Résumé. Cet article se propose de situer le dosage sanguin du phosphatidyléthanol (PEth) dans le panorama du dépistage d'une consommation d'éthanol provoquant des troubles liés à l'usage d'alcool (TUA), et de présenter les méthodes d'analyse disponibles, les données d'interprétation, quelques applications pratiques et les perspectives d'utilisation de ce biomarqueur. Le PEth est un métabolite mineur de l'éthanol. Parmi près de 50 homologues du PEth existants, le PEth 16:0/18:1 est le plus abondant. L'intérêt que présente le PEth par rapport aux autres biomarqueurs est l'élargissement de la fenêtre de détection d'une consommation d'éthanol. En effet, il présente une demi-vie d'élimination sanguine d'environ 5 jours, ce qui permet une estimation des consommations d'alcool sur 21 à 28 jours. Ainsi, ses principales applications en routine se situent dans le dépistage des TUA et le suivi de sevrage (en association systématique avec le dosage urinaire d'éthylglucuronide) en addictologie et en pré- et post-transplantation hépatique. Des données demeurent cependant nécessaires pour parfaire l'interprétation des concentrations sanguines mesurées et parvenir à un consensus concernant les valeurs-seuils d'interprétation.

Mots clés : *phosphatidyléthanol, alcoolodépendance, dried blood spot (DBS), spectrométrie de masse, applications cliniques*

Abstract. This article aims to place the phosphatidylethanol (PEth) blood test in the detection area of ethanol consumption causing alcohol-related disorders, to present the current methods of analysis, data on interpretation, some practical applications and the prospects of use of this biomarker. PEth is a minor metabolite of ethanol. Among nearly 50 PEth counterparts, PEth 16:0/18:1 is the most abundant. The interest that PEth brings compared to other biomarkers is the extended window of detection of ethanol consumptions. Indeed, it has a blood elimination half-life of approximately 5 days, which offers estimated alcohol consumption for a 21 to 28 days period. Thus, the detection of alcohol use disorders and withdrawal monitoring (systematically combined with urinary ethylglucuronide) in addictology and in liver pre- and post-transplantation are today its main routine applications. Nevertheless, additional data are still necessary to improve the interpretation of measured concentrations and to reach a consensus on interpretation cut-offs of blood PEth concentrations.

Key words: *phosphatidylethanol, alcohol dependence, dried blood spot (DBS), mass spectrometry, clinical applications*

Article reçu le 26 juillet 2019,
accepté le 17 octobre 2019

L'éthanol est un toxique communément consommé et dont l'abus (troubles liés à l'usage d'alcool – TUA – qui font partie des maladies psychiatriques et se définissent comme un usage d'alcool causant une déficience ou une détresse

cliniquement importante) est associé à de nombreux problèmes sociétaux (sécurité routière, violences, délit et crimes. . .) et sanitaires. Le métabolisme de l'éthanol est principalement oxydatif (90 %). Son métabolite toxique, l'acétaldéhyde, est produit par le biais de trois voies biochimiques : alcool déshydrogénase (ADH), cytochrome P450 (CYP2E1) et catalase. Le métabolisme non oxydatif

Correspondance : J.-M. Gaulier
<jean-michel.gaulier@chru-lille.fr>

(10 %) donne lieu à la production de métabolites mineurs, dont le phosphatidyléthanol (PEth). Il existe deux types de biomarqueurs d'une consommation d'éthanol [1], les marqueurs indirects et les marqueurs directs. Les marqueurs indirects (transaminases, volume globulaire moyen (VGM), gamma-glutamyl transpeptidase (g-GT), transferrine carboxy déficiente (CDT) sont liés à des modifications métaboliques induites chez les patients alcoolodépendants. Les marqueurs directs sont l'éthanol lui-même et ses métabolites mineurs, notamment l'éthylglucuronide (EtG), le PEth, l'éthylsulfate, ou encore les éthyl-esters d'acide gras. Le PEth est produit par la transphosphatidylation de phospholipides (principalement la phosphatidylcholine) avec l'éthanol [2, 3]. Cette réaction est catalysée par la phospholipase D (PLD) qui, en l'absence d'éthanol, hydrolyse la membrane des phospholipides en acide phosphatidique (PA) [4]. Contrairement aux autres cellules, les globules rouges ne possèdent pas la phosphatidylcholine phospholipase C qui catalyse la dégradation du PEth [5, 6]. En conséquence, le sang total constitue la matrice la plus intéressante pour le dosage du PEth. En fait, il existe au moins 40 homologues de PEth, qui diffèrent par leurs deux chaînes d'acide gras. Ceux qui sont retrouvés en fortes concentrations dans le sang humain à la suite d'une exposition à l'éthanol sont les PEth 16:0/18:2, 18:1/18:1 et 16:0/18:1 [7] qui est le plus abondant (*figure 1*). Le PEth 16:0/18:1 représente effectivement environ 40 % des PEth présents contre 22 % pour le PEth 16:0/18:2 [8]. Dans le cadre de la détection de la prise de boissons alcoolisées, le dosage du PEth 16:0/18:1 dans le sang est donc théoriquement le biomarqueur le plus sensible : une sensibilité de 86 % et une spécificité de 100 % sont généralement rapportées [8]. Après une consommation aiguë d'éthanol, le PEth 16:0/18:1 est retrouvé progressivement dans le sang avec un Tmax de 90 à 120 minutes. Sa demi-vie d'élimination sanguine est longue (3 à 7 jours [1, 9-11]) et son dosage sanguin permet donc théoriquement sa détection pendant les 21 à 28 jours qui suivent la consommation d'éthanol. Cette importante fenêtre de détection (3 semaines) se rapproche de celle offerte par le dosage de l'EtG dans les cheveux (3 à 6 mois) [12].

Les avantages du dosage sanguin du PEth par rapport à celui de l'EtG capillaire sont nombreux : matrice (sang) plus usuelle et moins compliquée à prélever et à analyser que les cheveux, délai d'analyse plus court, coût analytique moindre. Aujourd'hui, ce biomarqueur d'exposition à l'éthanol est devenu un outil dont l'utilisation se déploie en routine, comme en témoigne le nombre croissant de publications internationales en rapport (*figure 2*).

Le phosphatidyléthanol présente cependant deux difficultés :

- du fait de sa nature chimique, il n'est pas aisé d'en réaliser l'analyse et la quantification. Cependant, les récentes

avancées méthodologiques et techniques permettent aujourd'hui d'en envisager le dosage en routine [13] ;

- le PEth est dit instable *in vitro* (dans le tube de sang) au bout de quelques jours à température ambiante [14, 15]. Des travaux récents proposent une solution élégante pour stabiliser le PEth sanguin : l'utilisation de *dried blood spot* (DBS) [8, 16]. En effet, dans une goutte de sang séché sur un papier buvard, le PEth apparaît stable au moins 6 mois à température ambiante [8, 17].

Méthodes de dosage

Historiquement, le PEth a d'abord été analysé par chromatographie sur couche mince (CCM) qui n'en permettait pas une analyse quantitative. Le PEth a été ensuite dosé dans le sang total par chromatographie liquide (CL) combiné à une détection par détecteur évaporatif à diffusion de lumière. Les limites de détection (LDD) et quantification (LDQ) de cette méthode étaient situées aux alentours de 200 µg/L. Avec une telle méthode quantitative, il n'était pas possible d'établir de corrélation entre les concentrations sanguines de PEth pouvant être mesurées et la consommation excessive d'alcool au cours des quelques semaines précédentes [13]. Actuellement, l'analyse du PEth est principalement réalisée par technique de CL avec une détection par spectrométrie de masse en tandem (SM/SM). Cette technique a permis de différencier près de 50 homologues de PEth différents. Mais surtout, l'augmentation des performances analytiques et le dosage spécifique du PEth 16:0/18:1 ont permis de mieux apprécier les différents niveaux de consommation (faible, modéré et excessif).

Aujourd'hui, le dosage sanguin du PEth est réalisé à partir de sang total avec des protocoles d'extraction variables, mais qui suivent une procédure reposant généralement sur les éléments suivants : addition d'un étalon interne (phosphatidylbutanol, phosphatidylpropanol ou PEth deutéré), addition d'un agent précipitant (isopropanol), extraction liquide-liquide (hexane principalement), séchage et reprise par la phase mobile pour une analyse par CL-SM/SM. Certains protocoles ont été améliorés par l'ajout de certaines étapes comme l'utilisation de la micro-extraction dispersive liquide-liquide ou l'extraction en phase solide (SPE). Pour faciliter l'étape pré-analytique, l'utilisation d'extraction online par SPE et/ou l'automatisation est également proposée. Enfin, pour pallier l'instabilité pré-analytique réputée du PEth dans le tube de sang, le transfert d'une faible quantité de sang sur buvard (DBS) est utilisé avec plusieurs avantages :

- il s'agit d'une méthode alternative de prélèvement sanguin qui est peu invasive (prélèvement effectué en capillaire au bout du doigt comme avec les hémogluco-tests pour les

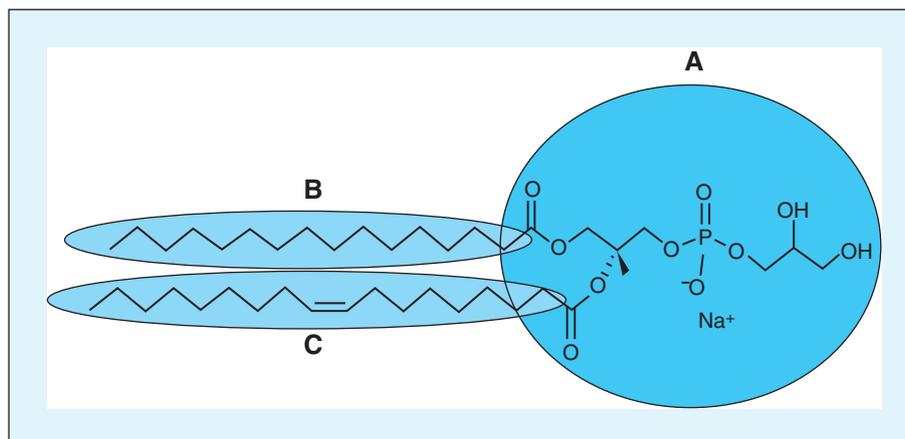


Figure 1. PEth 16:0/18:1. (A) noyau commun des PEth, (B) première chaîne d'acides gras (palmitoyle) et (C) deuxième chaîne d'acides gras (oléoyle monoinsaturée).

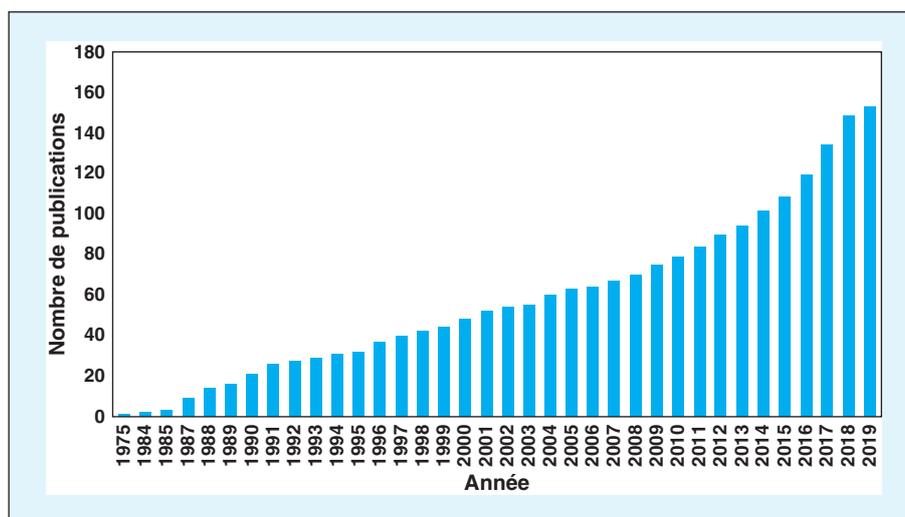


Figure 2. Nombre de publications cumulées, indexées dans PubMed et retrouvées (08/07/2019) sur la base du mot clé « phosphatidylethanol » dans le titre et/ou l'abstract.

glycémies du diabétique) avec un faible volume sanguin prélevé (5 à 20 μL) ;

- le stockage et le transport de l'échantillon (papier buvard) sont faciles et peu coûteux (température ambiante) ;
- il n'y a pas de néoformation *in vitro* de PEth sur DBS [13], alors que l'existence de ce phénomène dans un tube de sang a été suggérée [18].

Les protocoles d'extraction à partir d'un DBS sont relativement similaires à ceux du sang total dans un tube. Le PEth étant situé dans la membrane des globules rouges, l'influence de l'hématocrite sur les concentrations mesurées est significative. C'est la raison pour laquelle, afin de limiter cette influence, il est nécessaire (1) de déposer un volume précis et connu de sang et (2) de récupérer (et d'analyser) la totalité du spot de sang [19].

Il est ici important de préciser qu'il existe deux manières de pratiquer des analyses quantitatives sur DBS : les méthodes non volumétriques et les méthodes volumétriques. Les méthodes non volumétriques consistent à utiliser des spots de sang (obtenus généralement à partir de gouttes de sang recueillies directement au bout du doigt du patient) dont le volume n'est pas maîtrisé, et d'analyser une surface fixe (un diamètre fixe de buvard) prélevé à l'intérieur du spot de sang. Ce type de méthode offre l'avantage de s'affranchir de la contrainte de mesurer le volume de sang déposé sur le buvard. Mais dans le même temps, les résultats obtenus par ces méthodes vont subir l'influence de l'hématocrite. Cette influence est essentiellement liée aux variations de viscosité du prélèvement sanguin qui vont impacter l'étalement du sang sur le buvard, ainsi que la répartition des globules

Tableau 1. Concentrations sanguines seuils de PEth 16:0/18:1 proposées dans la littérature pour la détection des « consommateurs excessifs ».

Concentration sanguine de PEth 16:0/18:1 proposée comme seuil de détection	221 µg/L [8]	200 µg/L [20]	202 µg/L [21]	215 µg/L [22]
Définition du « consommateur excessif » utilisée	Non précisée	Plus de 56 g/J d'éthanol (NIAAA*)	Plus de 60 g/J d'éthanol (OMS)	Non précisée

* National institute on alcohol abuse and alcoholism.

rouges dans le spot de sang. Les méthodes volumétriques consistent en un dépôt d'un volume précis de sang et en l'analyse de l'intégralité du spot de sang obtenu. Dans le cas des méthodes de dosage sanguin du PEth, ce sont les méthodes volumétriques qui sont très largement employées selon deux modalités : prélèvement au pli du coude du patient (généralement sur tubes citratés car le PEth apparaît stable dans le sang au moins quelques heures avec cet anticoagulant) et transfert d'un volume précis (pipette de précision) sur le buvard, au laboratoire, ou bien, utilisation de dispositifs alternatifs de prélèvement (de type Hemaxis®, DBS System SA™, Gland, Suisse) permettant la mesure d'un volume précis de sang prélevé au bout du doigt du patient, et son transfert direct sur un buvard par le préleveur.

Interprétation

Sur le plan de l'interprétation des résultats, la première difficulté provient du fait qu'il n'existe pas de définition « scientifique et médicale » précise et consensuelle d'une consommation excessive d'alcool. Ainsi, et par exemple, la « consommation chronique à risques élevés » est définie par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) comme étant une consommation quotidienne égale ou supérieure à 6 doses standards (soit 60 g) par jour pour les hommes, et à 4 doses standards (soit 40 g) par jour pour les femmes. En France, Santé publique France et l'Institut national du cancer ont mené récemment un travail d'expertise scientifique qui a permis de fixer de nouveaux repères de « consommation à moindre risque », avec un maximum de 2 verres standards par jour, sans dépasser 10 verres standards par semaine, pour les hommes comme pour les femmes. En ce qui concerne le dosage sanguin du PEth, aucune valeur-seuil d'interprétation ne fait actuellement l'objet d'un consensus international. D'une manière générale, plusieurs études [8, 20-22] s'accordent sur une concentration sanguine de PEth 16:0/18:1 aux alentours de 200 µg/L pour détecter les « consommateurs excessifs » (tableau 1). Un autre seuil de concentration est retrouvé dans la littérature, celui de 20 µg/L. Pour dépasser cette concentration, il faudrait 2,5 doses standards d'éthanol par jour pour un

homme (soit 35 g/J, car une dose standard américaine représente 14 g d'éthanol, contre 10 g selon l'OMS) et 1,5 à 2 doses/J pour une femme [23]. Plusieurs études proposent d'établir une relation entre une concentration sanguine de PEth et une consommation d'éthanol (contrôlée ou rapportée). Une méta-analyse [11] regroupe d'ailleurs ces données pour proposer, en conclusion, des valeurs seuil d'interprétation :

- < 20 µg/L : faible ou pas de consommation (< 2 doses/J, plusieurs jours par semaine) ;
- entre 20 et 200 µg/L : consommation modérée (2 à 4 doses/J plusieurs jours par semaine) ;
- > 200 µg/L : consommation excessive définie comme étant supérieure à 4 doses/J plusieurs jours par semaine.

Cependant, l'estimation d'une consommation d'alcool en fonction des concentrations sanguines en PEth doit tenir compte du fait que ce biomarqueur, au vu de sa demi-vie d'élimination sanguine longue, est cumulatif. Ainsi, la concentration sanguine va dépendre de plusieurs facteurs comme le moment de la dernière consommation, la fréquence de consommation, la quantité ingérée et la variabilité interindividuelle (sexe, métabolisme...). Au total, ces éléments expliquent fort probablement la diversité des études et des propositions de *cut-offs* dans la littérature [11].

En pratique

Nous avons développé une méthode de dosage du PEth sur DBS, validée selon la norme ISO 15189 et accréditée Cofrac en portée B, au CHU de Lille. Cette méthode repose sur un prélèvement sanguin sur tube citraté (nous précisons que compte tenu de la présence de cet anticoagulant liquide et donc de la dilution au 9/10 du sang, nous vérifions le remplissage correct des tubes à réception au laboratoire, et nous réalisons les gammes de calibrage dans les mêmes conditions - tubes citratés - pour corriger cette légère dilution), le dépôt de 10 µL de sang total sur un papier buvard à réception du tube, une extraction solide-liquide avec utilisation comme étalon interne de PEth deutéré (D5) et une analyse par chromatographie liquide couplée à une détection par spectrométrie de masse en tandem (CL-SM/SM). La LDD (= LDQ) est de 5 µg/L. Des contrôles de qua-

lité internes [24] et des contrôles de qualité externes [25] sont disponibles pour cette méthode, et il est possible de réaliser aisément, grâce au support DBS, des évaluations inter-laboratoires. Cette méthode est mise en œuvre en routine depuis début 2019. À ce jour, les services cliniques d'addictologie et d'hépto-gastro-entérologie du CHU de Lille prescrivent la quasi-totalité des demandes de dosage sanguin de PEth reçues par notre laboratoire.

En addictologie [26], le dépistage, l'évaluation et le suivi d'une alcoolodépendance reposent principalement sur l'entretien clinique, associé éventuellement à l'utilisation de biomarqueurs de la consommation d'éthanol (principalement l'éthanolémie et/ou éthalonurie, l'EtG urinaire, voire les marqueurs indirects tels que les CDT). Cependant, les données recueillies supposent une complète observance du patient vis-à-vis de son suivi, ainsi qu'une bonne alliance avec le praticien. Au-delà de 72 h (fenêtre de détection maximale de l'EtG urinaire), le clinicien ne dispose plus de marqueurs objectifs pour dépister une consommation d'éthanol. C'est dans ce cadre que le PEth, disposant d'une fenêtre de détection moyenne d'environ trois semaines, intéresse les addictologues. L'exemple suivant illustre cet intérêt : il s'agit d'un patient suivi régulièrement par le service d'addictologie pour prise en charge d'un TUA. Lors d'une consultation, ce patient déclare une absence de consommation d'éthanol depuis près d'un an et les biomarqueurs usuels (éthanolémie et EtG urinaire et capillaire) se révèlent effectivement négatifs (ou non-déTECTABLES). Cependant, il présente des concentrations sanguines de PEth situées entre 300 et 400 $\mu\text{g/L}$ lors de trois consultations successives. Le clinicien décide de confronter le patient à ces résultats. Le patient indique finalement une consommation quotidienne de 2 à 3 verres. Les addictologues ont pu alors adapter sa prise en charge et les dosages sanguins suivants de PEth à 65 $\mu\text{g/L}$ (3 semaines plus tard) et à 30 $\mu\text{g/L}$ (7 semaines plus tard) ont confirmé une diminution significative de sa consommation d'alcool sans, toutefois, obtenir une abstinence totale.

Le service d'hépto-gastro-entérologie prescrit les dosages sanguins de PEth dans des contextes d'hépatopathie alcoolique et de transplantation hépatique. La maladie alcoolique du foie (MAF) est une manifestation clinique de l'effet de la consommation régulière et abusive d'éthanol sur le foie. Cette consommation régulière entraîne d'abord une stéatose, c'est-à-dire une accumulation anormale d'acides gras et de triglycérides dans les hépatocytes ($> 5\%$ de la masse de l'hépatocyte). À ce stade, un arrêt de la consommation d'éthanol permet une réversibilité des lésions. La poursuite d'une consommation régulière excessive peut entraîner une stéato-hépatite alcoolique, qui se caractérise par une inflammation du parenchyme hépatique et une fibrose par activation des cellules stellaires hépatiques. La poursuite de ce processus de fibrose, accompagné

d'atrophie des hépatocytes et, en réponse, d'une régénération des hépatocytes, entraîne l'apparition de nodules cirrhotiques [27]. Les éléments-clés permettant d'améliorer le pronostic d'une MAF sont l'arrêt total des consommations en alcool et le maintien de cette abstinence à long terme. Cette période d'abstinence est un prérequis commun lorsque l'ALD nécessite une transplantation, une durée de 6 mois étant habituellement demandée. Pour cela, il est essentiel de pouvoir documenter cette abstinence de façon efficace. C'est dans ce cadre que se situe l'utilisation des biomarqueurs de la consommation d'éthanol tels que le PEth sanguin [28]. Une fois la greffe effectuée, une abstinence totale en alcool est là encore requise. De nombreuses études ont toutefois mis en évidence que la reprise des consommations d'alcool était relativement fréquente en postgreffe, avec une fréquence des rechutes sévères de l'ordre de 18 % après 9 ans de suivi. Celles-ci sont alors à l'origine d'une cirrhose du greffon dans près d'un tiers des cas [29]. Le repérage précoce de la reprise des consommations d'alcool en post-greffe s'avère donc être un enjeu majeur. Pour cela, l'utilisation de biomarqueurs de la consommation d'éthanol peut ici également aider le clinicien et permettre la mise en place d'une procédure de réduction des risques chez ces patients [30, 31]. À titre d'illustration, prenons le cas de ce patient de 39 ans, greffé au 1^{er} trimestre 2017. Au 2^e trimestre 2019, dans le cadre de son suivi systématique de post-greffe hépatique, ce patient a présenté une concentration sanguine de plus de 900 $\mu\text{g/L}$ de PEth ; le service a alors convoqué ce patient afin qu'il bénéficie d'une prise en charge addictologique en urgence.

Conclusion et perspectives

Le dosage sanguin du PEth constitue un outil prometteur dans l'amélioration de la prise en charge des TUA. Les méthodes analytiques peuvent être mises en œuvre en routine dans des conditions (incluant le délai de rendu de résultats) en adéquation avec les nécessités et contraintes cliniques. Il est cependant indéniable que ce nouveau biomarqueur devra bénéficier dans un futur proche d'études clinico-biologiques permettant une consolidation de l'interprétation des concentrations mesurées, voire aboutissant à un consensus concernant les valeurs-seuils d'interprétation (*cut-offs*).

Enfin, le dosage sanguin du PEth peut probablement s'appliquer efficacement à d'autres domaines de la toxicologie biologique et médico-légale.

Ainsi, et par exemple, les obstétriciens commencent à s'intéresser à cet outil pour le dépistage d'une consommation d'éthanol chez la femme enceinte [32]. L'incidence des troubles causés par l'alcoolisation fœtale (TCAF) est

estimée à 0,9 % des naissances en France et l'alcool est la première cause (non génétique) de retard mental en France. L'élément premier du dépistage des TCAF est la mise en évidence d'une consommation significative d'alcool pendant la grossesse. En réalité, il n'existe pas de dose-seuil d'éthanol à partir de laquelle le risque est avéré pour l'enfant à naître. Toutefois, une consommation supérieure à un verre par jour semble présenter un risque significatif. Ainsi, les recommandations actuelles sont de ne pas consommer de boissons alcoolisées durant toute la durée de la grossesse, et ce quelle que soit la quantité. Le dépistage en service de gynécologie-obstétrique repose généralement sur un autoquestionnaire lors d'une consultation prénatale, sur le dosage de biomarqueurs de la consommation d'éthanol chez la future mère, ou sur un faisceau d'arguments composés d'une combinaison de ces différents outils. L'objectif de ce dépistage chez les femmes enceintes est de diriger celles suspectées de consommer de l'alcool vers un spécialiste, afin qu'une action de prévention soit effectuée et un éventuel suivi mis en place (soutien médico-psychosocial de type motivationnel).

Dans un cadre médico-légal, certains pays comme la Suisse ou la Belgique utilisent déjà le dosage du PEth sanguin pour la restitution du permis de conduire après une condamnation à la suite de la conduite de véhicule sous l'influence de l'alcool. Le PEth sanguin peut également fournir des informations sur les habitudes de consommations d'alcool dans un cadre médico-légal plus large, par exemple en cas d'échantillons sanguins recueillis après un délai important par rapport aux faits délictueux ou criminels.

Enfin, nos premiers essais de mise en œuvre du dosage de PEth en toxicologie médico-légale *post mortem* semblent prometteurs, même si l'applicabilité de ce biomarqueur demeure ici assujettie à plusieurs questions incluant notamment sa stabilité *in corpus mortuus*.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêts en rapport avec cet article.

Références

- Heier C, Xie H, Zimmermann R. Nonoxidative ethanol metabolism in humans-from biomarkers to bioactive lipids. *IUBMB Life* 2016; 68(12): 916-23. doi.org/10.1002/iub.1569.
- Gustavsson L, Alling C. Formation of phosphatidylethanol in rat brain by phospholipase D. *Biochem Biophys Res Commun* 1987; 142: 958-63. doi.org/10.1016/0006-291x(87)91507-.
- Kobayashi M, Kanfer JN. Phosphatidylethanol formation via transphosphatidylation by rat brain synaptosomal phospholipase D. *J Neurochem* 1987; 48: 1597-603. doi.org/10.1111/j.1471-4159.1987.tb05707.x.
- Frohman MA. The phospholipase D superfamily as therapeutic targets. *Trends Pharmacol Sci* 2015; 36(3): 137-44. doi.org/10.1016/j.tips.2015.01.001.
- Shield KD, Parry C, Rehm J. Chronic diseases and conditions related to alcohol use. *Alcohol Res* 2013; 35(2): 155-73.
- Rowland A, Miners JO, Mackenzie PI. The UDP-glucuronosyltransferases: their role in drug metabolism and detoxification. *Int J Biochem Cell Biol* 2013; 45(6): 1121-32. doi.org/10.1016/j.biocel.2013.02.019.
- Berg T, Eliassen E, Jørgenrud B, Kabashi S, Petukhov A, Bogstrand ST. Determination of phosphatidylethanol 16:0/18:1 in whole blood by 96-well supported liquid extraction and UHPLC-MS/MS. *J Clin Lab Anal* 2019; 33(1): e22-31. doi.org/10.1002/jcla.22631.
- Kummer N, Ingels AS, Wille SMR, Hanak C, Verbanck P, Lambert WE, et al. Quantification of phosphatidylethanol 16:0/18:1, 18:1/18:1, and 16:0/16:0 in venous blood and venous and capillary dried blood spots from patients in alcohol withdrawal and control volunteers. *Anal Bioanal Chem* 2016; 408(3): 825-38. doi.org/10.1007/s00216-015-9169-1.
- Schröck A, Thierauf-Emberger A, Schürch S, Weinmann W. Phosphatidylethanol (PEth) detected in blood for 3 to 12 days after single consumption of alcohol-a drinking study with 16 volunteers. *Int J Legal Med* 2017; 131(1): 153-60. doi.org/10.1007/s00414-016-1445-x.
- 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; 42(5): 851-60. doi.org/10.1111/acer.13620.
- 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; 63(6): 1634-40. doi.org/10.1111/1556-4029.13874.
- Imbert L, Gaulier JM, Dulaurent S, Lachatre G. Dosages urinaire et capillaire de l'éthylglucuronide. *Ann Biol Clin (Paris)* 2012; 70: 629-34. doi.org/10.1684/abc.2012.0764.
- Nguyen VL, Fitzpatrick M. Should phosphatidylethanol be currently analysed using whole blood, dried blood spots or both? *Clin Chem Lab Med* 2019; 57(5): 617-22. doi.org/10.1515/eclm-2018-0667.
- Van Der Nagel BCH, Wassenaar S, Bahmany S, Koch BCP. Quantification of phosphatidylethanol in whole blood as a proxy for chronic alcohol consumption, using ultra performance convergence chromatography tandem mass spectrometry. *Ther Drug Monit* 2018; 40(2): 268-75. doi.org/10.1097/FTD.0000000000000492.
- Andreassen TN, Havnen H, Spigset O, Falch BMH, Skråstad RB. High throughput UPLC@-MSMS method for the analysis of phosphatidylethanol (PEth) 16:0/18:1, a specific biomarker for alcohol consumption, in whole blood. *J Anal Toxicol* 2018; 42(1): 33-41. doi.org/10.1093/jat/bkx075.
- Kummer N, Lambert WEE, Samyn N, Stove CP. Alternative sampling strategies for the assessment of alcohol intake of living persons. *Clin Biochem* 2016; 49(13-14): 107891. doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2016.05.007.
- Bakhireva LN, Shrestha S, Gutierrez HL, Berry M, Schmitt C, Sarangam D. Stability of phosphatidylethanol in dry blood spot cards. *Alcohol Alcohol* 2016; 51(3): 275-80. doi.org/10.1093/alcalc/aggv120.
- Aradóttir S, Seidl S, Wurst FM, Jönsson BAG, Alling C. Phosphatidylethanol in human organs and blood: a study on autopsy material and influences by storage conditions. *Alcohol Clin Exp Res* 2004; 28(11): 1718-23. doi.org/10.1097/01.ALC.0000145687.41646.E5.

19. 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.org/10.1016/j.cca.2018.01.008.
20. Simon TW. Providing context for phosphatidylethanol as a biomarker of alcohol consumption with a pharmacokinetic model. *Regul Toxicol Pharmacol* 94; 2018: 163-71. doi.org/10.1016/j.yrtph.2018.01.029.
21. Viel G, Boscolo-Berto R, Cecchetto G, Fais P, Nalesso A, Ferrara SD. Phosphatidylethanol in blood as a marker of chronic alcohol use: a systematic review and meta-analysis. *Int J Mol Sci* 2012; 13(11): 14788-812. doi.org/10.3390/ijms131114788.
22. Helander A, Hansson T. National harmonization of the alcohol biomarker PEth. *Lakartidningen* 2013; 110(39-40): 1747-8.
23. 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. doi.org/10.1093/alcalc/agv038.
24. <https://www.acq-science.de/en/produkte/peth-in-whole-blood—new-product.html> (consulté le 08/07/2019).
25. <https://www.equalis.se/en/products-services/eqa/phosphatidylethanol/> (consulté le 08/07/2019).
26. Spithoff S, Kahan M. Prise en charge en soins primaires des troubles liés à l'usage d'alcool et de la consommation à risque. *Can Fam Physician* 2015; 61(6): e259-65.
27. Celli R, Zhang X. Pathology of alcoholic liver disease. *J Clin Transl Hepatol* 2014; 2(2): 103-9. doi.org/10.14218/JCTH.2014.00010.
28. Nguyen VL, Haber PS, Seth D. Applications and challenges for the use of phosphatidylethanol testing in liver disease patients (mini review). *Alcohol Clin Exp Res* 2018; 42(2): 238-43. doi.org/10.1111/acer.13558.
29. Dumortier J, Dharancy S, Cannesson A, Lassailly G, Rolland B, Pruvot FR, et al. Recurrent alcoholic cirrhosis in severe alcoholic relapse after liver transplantation: a frequent and serious complication. *Am J Gastroenterol* 2015; 110(8): 1160-6. doi.org/10.1038/ajg.2015.204.
30. Fleming MF, Smith MJ, Oslakovic E, Lucey MR, Vue JX, Al-Saden P, et al. Phosphatidylethanol detects moderate-to-heavy alcohol use in liver transplant recipients. *Alcohol Clin Exp Res* 2017; 41(4): 857-62. doi.org/10.1111/acer.13353.
31. Lim J, Sundaram V. Risk factors, scoring systems, and interventions for alcohol relapse after liver transplantation for alcoholic liver disease. *Clin Liver Dis (Hoboken)* 2018; 11(5): 105-10. doi.org/10.1002/cld.696.
32. Haute autorité de santé (HAS). Troubles causés par l'alcoolisation fœtale : repérage. Recommandation de bonne pratique - Mis en ligne le 11 sept. 2013, https://www.hassante.fr/jcms/c_1636956/fr/troubles-causes-par-l-alcoolisation-foetale-reperage (consulté le 08/07/2019).