

Pr Jean-Pierre Goullé*, Pr Michel Guerbet*

* Laboratoire de toxicologie, UNIROUEN, UR ABTE EA 465, UFR de santé, 22, boulevard Gambetta, F-76183 Rouen Cedex

Correspondance : Jean-Pierre Goullé. Courriel : jean-pierre.goulle@univ-rouen.fr

Reçu juin 2019, accepté août 2019

Dépistage biologique de la consommation d'alcool

Quoi de nouveau ?

Résumé

Le métabolisme de l'éthanol est principalement hépatique, il emprunte la voie de l'acétaldéhyde. Sa consommation engendre des désordres au niveau des hépatocytes responsables de modifications biologiques indirectes (GGT, CDT, VGM, transaminases...). Ces examens sont classiquement prescrits pour dépister une consommation régulière d'alcool, mais manquent de sensibilité et surtout de spécificité. Ceci explique que de nouveaux marqueurs ont été recherchés. Issus du métabolisme non oxydatif, ils sont quantitativement mineurs, leur part dans le métabolisme de l'éthanol étant inférieure à un pour mille, mais ce sont des traceurs spécifiques de cette exposition. En effet, il a été montré que la consommation d'alcool produisait : de l'éthylglucuronide, après action d'une glucuronyltransférase sur l'éthanol ; des phosphatidyléthanolols, sous l'effet d'une phospholipase ; des esters éthyliques d'acides gras, en présence de synthétase d'acides gras ; de l'éthylsulfate, au contact d'une sulfotransférase. Grâce aux progrès analytiques réalisés au cours des dernières années, il est désormais possible de quantifier ces nouveaux marqueurs directs d'alcoolisation présents à l'état de traces dans les milieux biologiques (quelques milligrammes par litre dans le sang, les urines ; quelques picogrammes par milligramme dans les cheveux, les ongles, le méconium).

Mots-clés

Éthanol – Consommation – Marqueur – Biologie.

Summary

Biological testing for alcohol exposure: what is new?

The metabolism of ethanol is mainly hepatic, it borrows the acetaldehyde pathway. Its consumption causes disorders in hepatocytes responsible for indirect biological modifications (GGT, CDT, VGM, transaminases...). These tests are classically prescribed to detect regular exposure to alcohol, but lack of sensitivity and especially of specificity. This explains that new markers have been searched. Derived from non-oxidative metabolism, they are quantitatively minor, their part in the metabolism of ethanol being less than one per thousand, but they are specific tracers of this exposure. Indeed, it has been shown that the consumption of alcohol produces: ethylglucuronide, after action of a glucuronyltransferase on ethanol; phosphatidylethanolols, under the effect of a phospholipase; ethyl esters of fatty acids, in the presence of fatty acid synthetase; ethylsulfate, in contact with a sulfotransferase. Due to the analytical progress made in the recent years, it is possible to quantify these new direct alcohol markers in biological media (a few milligrams per liter in the blood, urine, a few picograms per milligram in hair, nail or meconium).

Key words

Ethanol – Exposure – Marker – Biology.

L'éthanol, drogue licite très répandue, rentre dans la composition de nombreuses boissons. La consommation d'alcool en France, qui est au troisième rang européen et dont le vin reste la source principale, représente un problème majeur de santé publique. Les

complications et maladies liées à l'alcool sont individuelles, mais aussi sociales comme les accidents de la voie publique ou du travail, les actes de violences conjugales et envers soi-même ou autrui. Le nombre de décès annuels imputables à l'alcool est estimé à 41 000

dont 16 000 par cancers, 10 000 par maladies cardiovasculaires, 7 000 par maladies digestives (1). Rappelons qu'après le tabac, l'alcool constitue la deuxième cause évitable de mortalité, d'où la grande importance à la fois de l'interrogatoire, de l'examen clinique et de l'exploration biologique de sa consommation.

Rappel sur la cinétique de l'éthanol

Absorption par voie digestive

L'absorption par voie digestive s'effectue par simple diffusion, principalement au niveau du duodénum et du jéjunum proximal (70 à 80 %) et, pour une plus faible proportion, à partir de l'estomac (2). Un certain nombre de facteurs sont susceptibles de la ralentir ou de l'accélérer. Parmi les paramètres qui vont la ralentir, citons la prise d'aliments, qu'il s'agisse de lipides, de protéines ou de la plupart des glucides. La consommation simultanée d'aliments a tendance à minimiser le pic d'alcoolémie, mais ensuite ne modifie pas sa cinétique d'élimination. En fait, c'est la vitesse de vidange gastrique qui est déterminante, puisque l'absorption de l'éthanol est beaucoup plus rapide au niveau du duodénum et du jéjunum (2). Par ce même mécanisme, certains médicaments sont également susceptibles de modifier la motilité gastro-intestinale et ainsi d'agir sur la vitesse d'absorption. Parmi les facteurs qui vont l'accélérer, figurent la vacuité de l'estomac, l'accélération de la motilité gastro-intestinale, mais également l'élévation du degré alcoolique de la boisson, ainsi que la présence de gaz carbonique. Mitchell et al. (3) ont montré qu'après la consommation à jeun d'une quantité équivalente d'éthanol, 0,5 g/kg de poids corporel, l'alcoolémie maximale était significativement plus élevée avec de la vodka ($0,77 \pm 0,17$ g/L – $p < 0,001$) qu'avec du vin ($0,62 \pm 0,11$ g/L) ou de la bière ($0,50 \pm 0,10$ g/L). Le pic d'alcoolémie est également plus précoce après l'ingestion de vodka (36 ± 10 min – $p < 0,01$) que de vin (54 ± 14 min) ou de bière (62 ± 23 min). La comparaison des aires sous la courbe (AUC) montre une valeur plus élevée pour la vodka ($1,51 \pm 0,22$ g/L/h – $p < 0,001$) comparativement au vin ($1,38 \pm 0,22$ g/L/h) et à la bière ($1,19 \pm 0,18$ g/L/h). Les courbes d'alcoolémie sont superposables après 1 h 00 pour la vodka et le vin et après 1 h 30 pour les trois boissons. Le tube digestif joue un rôle capital dans la cinétique de l'éthanol. En effet, il a été constaté après absorption de grandes quantités d'éthanol sur une courte période,

que l'évaluation de la quantité ingérée à partir de l'alcoolémie était sous-estimée (2). Dans un tel contexte d'alcoolisation aiguë, en dehors de la possibilité d'une élimination directe accrue d'éthanol, l'effet de premier passage dès l'estomac et un métabolisme enzymatique direct au niveau de l'estomac et de l'intestin par l'alcool déshydrogénase (ADH) pourraient l'expliquer (2). De plus, ce métabolisme qui évite le foie conduit à une production locale d'acétaldéhyde pouvant être à l'origine de lésions tissulaires (2). De surcroît, le métabolisme bactérien dans le tube digestif a été largement étudié et il a été avancé qu'il contribuait non seulement à la toxicité locale, mais aussi à la maladie alcoolique et au déficit énergétique lié à la consommation chronique d'éthanol (2).

Pénétration par voie respiratoire

L'éthanol est présent dans de très nombreux produits de consommation courante : produits d'entretien, nettoyants, laves vitres, détergents liquides, produits d'hygiène, cosmétiques, désinfectants, encres, peintures et vernis, arômes, alcool à brûler par exemple. Chez les sujets exposés en milieu professionnel, l'éthanol étant très volatil, sa pénétration par voie respiratoire est importante. Celle-ci est estimée en moyenne à 60 % (4). Hormis des mesures collectives qui peuvent être prises en milieu industriel, les personnels les plus exposés doivent être équipés de protections respiratoires individuelles (4).

Pénétration par voie cutanée

Il s'agit d'une voie de pénétration négligeable chez l'adulte, de l'ordre de 1 % (4). Cependant, elle doit être prise en considération sur une peau lésée ou très perméable comme celle des nouveau-nés et des nourrissons. Chez ces derniers, l'application large d'une solution alcoolique d'eau de toilette peut conduire à un véritable coma éthylique.

Distribution de l'éthanol

L'une des caractéristiques essentielles de l'éthanol, liée à sa faible masse molaire et à sa grande hydrosolubilité, est qu'il diffuse très facilement dans tous les tissus de l'organisme car il suit les mouvements de l'eau. À l'exception des os et des graisses dans lesquels sa péné-

tration est négligeable, sa diffusion est très homogène, d'où un faible volume de distribution (Vd). Mesuré par Widmark en 1932, il s'établit en moyenne à 0,68 pour l'homme et à 0,55 pour la femme (5). Cette différence s'explique par une masse grasseuse plus importante chez la femme. Pour l'éthanol, il existe une étroite corrélation entre le volume de distribution apparent et la teneur en eau dans l'organisme dans les deux sexes (6). Des variations individuelles sont également possibles en fonction de la masse grasseuse (2). Il convient de rappeler que l'éthanol traverse la barrière fœto-placentaire et que sa consommation peut être à l'origine d'un syndrome d'alcoolisation fœtale (2).

Élimination

Une faible proportion de l'éthanol, de l'ordre de 10 à 15 %, est éliminée en l'état par différentes voies, et il est retrouvé dans les urines, la sueur, la salive, le lait, les larmes, l'air expiré. La présence d'éthanol dans l'air expiré constitue un moyen analytique indirect d'appréciation de l'imprégnation alcoolique d'un sujet. En effet, le rapport moyen de concentration dans l'air expiré et dans le sang à l'état d'équilibre est voisin de 1/2 100.

Métabolisme de l'éthanol

La principale voie de détoxification de l'éthanol est oxydative. Elle est essentiellement hépatique et représente 90 à 95 % de cette détoxification oxydative alors qu'au niveau de l'estomac, de l'intestin et du rein, elle n'est que de 5 à 10 % (2). Elle conduit à la formation d'acétaldéhyde puis d'acétate libéré dans la circulation sanguine, oxydé à son tour dans les tissus périphériques en gaz carbonique et en eau. Il existe d'autres voies tout à fait mineures de métabolisation de l'éthanol, voies non oxydatives, principalement hépatiques. Elles représentent moins de 1 % du métabolisme, mais elles sont d'une importance capitale pour le diagnostic biologique spécifique de la consommation d'alcool, ainsi que pour sa surveillance dans de nombreux contextes cliniques.

Les voies métaboliques oxydatives

Elles font appel à deux étapes d'oxydation saturables catalysées de manière prépondérante par deux familles d'enzymes :

- l'oxydation de la fonction alcool en fonction aldéhyde qui fait intervenir les alcool déshydrogénases (ADH) : $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \text{NAD}^+ \rightarrow \text{CH}_3\text{CHO} + \text{NADH} + \text{H}^+$;
- l'oxydation de la fonction aldéhyde en fonction acide sous l'influence d'acétaldéhyde déshydrogénase (ALDH) : $\text{CH}_3\text{CHO} + \text{H}_2\text{O} + \text{NAD}^+ \rightarrow \text{CH}_3\text{COOH} + \text{NADH} + \text{H}^+$.

Première étape : oxydation de la fonction alcool en fonction aldéhyde par les ADH

Les ADH sont une famille d'enzymes à zinc, NAD^+ dépendantes, oxydant l'éthanol en acétaldéhyde. Les ADH sont en réalité ubiquitaires, catalysant différents alcools en aldéhydes. Principalement localisées dans le cytosol hépatique, elles sont réparties en cinq classes définies par la structure primaire de l'enzyme, la mobilité électrophorétique des isozymes, leur affinité pour l'éthanol (7). Sur le plan génétique, on connaît chez l'homme huit gènes codant des ADH, situation qui se complique encore par le fait qu'il existe un polymorphisme génétique au niveau des loci ADH2 et ADH3. Des variations génétiques de l'ADH individuelles et/ou liées à l'ethnie vont affecter le métabolisme de l'éthanol (2). Sur le plan fonctionnel, chez l'homme, ce sont les isozymes de la classe I qui présentent le plus d'affinité pour l'éthanol et qui sont inhibées par le pyrazole et ses dérivés alkylés comme le 4-méthylpyrazole (7). Cette première étape aboutit à la formation d'acétaldéhyde, métabolite toxique de l'éthanol responsable en cas d'accumulation d'une symptomatologie à type de nausées, de vomissements, de céphalées, d'asthénie (2). Il existe également un métabolisme gastrique, lié à l'activité de l'ADH gastrique, indépendant du sexe, habituellement mineur, de l'ordre de 10 % de la quantité d'alcool ingérée, métabolisme diminué en cas de lésion de la muqueuse gastrique (2). Notons que tout le tube digestif (oropharynx, estomac, duodénum, intestin, rectum) sécrète diverses isozymes de l'ADH. La majorité des facteurs modulant l'activité de l'ADH gastrique agissent également sur le premier passage de l'éthanol (consommation chronique d'alcool, infection par *Helicobacter pylori*, cimétidine...) (2). La production locale d'acétaldéhyde au niveau des muqueuses digestives contribue à la toxicité locale et éventuellement à une cocarcinogénèse. En effet, il a été constaté une augmentation du risque de cancer rectal et non du risque de néoplasie colique chez le sujet présentant une consommation chronique d'alcool (8). Dans le même temps, le NAD réduit en NADH fragilise l'hépatocyte.

Deuxième étape : oxydation de la fonction aldéhyde en fonction acide sous l'influence d'ALDH

Les ALDH sont un groupe d'enzymes de détoxication, NAD⁺ dépendantes. L'acétaldéhyde déshydrogénase ALDH2 catalyse la transformation de l'acétaldéhyde en acide acétique dans la mitochondrie, selon un processus irréversible. Ces enzymes actives sur divers substrats aldéhydiques existent sous plusieurs formes avec des localisations tissulaires et cellulaires variées. 12 gènes des ALDH sont connus qui codent dix isozymes : ALDH1 à ALDH8, ainsi que γ ABDH et FALDH (7) dont les formes actives sont des homodimères et des homotétramères. Chez l'homme, ce sont des isozymes de l'ALDH qui sont à l'origine des variations de susceptibilité individuelle, une métabolisation moins efficace de l'acétaldéhyde conduisant à son accumulation dans le sang. Celle-ci est responsable du syndrome de *flushing* des populations asiatiques, caractérisé par une congestion faciale, une tachycardie, des brûlures digestives. L'ALDH est inhibée par le disulfirame (Antabuse®) avec pour conséquence une accumulation d'acétaldéhyde. C'est l'effet "antabuse" qui se manifeste chez les sujets traités par ce médicament et qui consomme de l'alcool.

Troisième étape : oxydation de l'acétate en dioxyde de carbone

L'acétate formé est oxydé à son tour en dioxyde de carbone et en eau au niveau des tissus périphériques et de certains organes : muscles, cœur, cerveau. L'acétate se combine au coenzyme A pour donner l'acétyl-coenzyme A, impliqué dans la biosynthèse du cholestérol et des acides gras dans les tissus périphériques et le cerveau.

Autres voies de biotransformation

Il existe deux autres voies enzymatiques accessoires présentant une affinité moindre pour l'éthanol (2).

La voie des monooxygénases à cytochrome P450 (CYP450)

Anciennement microsomal ethanol oxidizing system (MEOS) : $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \text{NADPH}^+ + \text{H}^+ + \text{O}_2 \rightarrow \text{CH}_3\text{CHO} + \text{NADP}^+ + 2 \text{H}_2\text{O}$. L'isozyme à fer NADP⁺ dépendant, oxyde comme précédemment l'éthanol en acétaldéhyde. Le CYP2E1 est non spécifique ; il présente un polymorphisme génétique et est induit par un

certain nombre de substances comme l'alcool et certains médicaments. Cette voie, principalement inductrice, est active chez le sujet présentant une consommation chronique d'alcool et en cas d'alcoolisation aiguë. Elle produit des formes radicalaires diverses à l'origine de la lipoperoxydation membranaire, de la dénaturation d'enzymes, de mutations de l'ADN du noyau, responsables de la mort hépatocytaire. Mentionnons qu'il existe d'autres isozymes des CYP450 (CYP1A2, CYP3A4) inductibles par l'éthanol, moins actives que le CYP2E1 (9).

La voie de la catalase

La catalase est une hémoprotéine localisée dans les peroxyosomes de la plupart des tissus, est accessoire comme la précédente, sauf chez le sujet présentant une consommation chronique d'alcool. Cette voie qui fait intervenir entre autres la xanthine oxydase et la catalase n'est active qu'en fonction de la quantité d'eau oxygénée produite au cours des réactions du métabolisme intermédiaire et parvenant au peroxyosome (2) : $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{CH}_3\text{CHO} + 2 \text{H}_2\text{O}$. L'acétaldéhyde est ensuite métabolisé comme indiqué précédemment.

Bilan des voies métaboliques oxydatives

La voie métabolique oxydative hépatique principale qui fait appel à l'ADH puis à l'ALDH est une voie saturable qui fonctionne à la vitesse maximale dès que l'alcoolémie atteint 0,10 g/L, soit dès la consommation d'une demi-unité alcoolique pour un sujet de 70 kg. De nombreuses études ont été publiées sur la vitesse β d'élimination de l'éthanol dans le sang, souvent appelée improprement coefficient d'éthyl-oxydation. À partir d'une revue de la littérature, Jones propose une valeur moyenne β de 0,16 g/L/h (10). Pour Lanquavi et al. (11), la décroissance horaire dans le sang total est de 0,15 g/L/h. Winek et Murphy (12) l'ont mesurée à 0,12 g/L/h chez les non-buveurs, à 0,15 g/L/h chez les buveurs modérés et à 0,30 g/L/h chez des sujets présentant un trouble de l'usage d'alcool. Selon Jones et Sternebring (13), chez des sujets présentant un trouble de l'usage d'alcool en cure de désintoxication, sa valeur moyenne est de 0,23 g/L/h avec des extrêmes allant de 0,13 à 0,36. Des chiffres supérieurs ont été rapportés, pouvant atteindre 0,52 g/L/h (14). Une observation tout à fait exceptionnelle avec une vitesse d'élimination vérifiée de 1,0 g/L/h a même été constatée (15). Ces chiffres importants et parfois considérables sont dus

à une augmentation du métabolisme chez les patients présentant une consommation chronique d'alcool dont l'origine est une induction enzymatique microsomale hépatique (10). Les situations de stress semblent majorer modérément la vitesse d'élimination de l'éthanol dans le sang. Breslin et al. ont mesuré 0,15 g/L/h chez des sujets volontaires sains et des valeurs de 0,17 et 0,18 g/L/h chez des sujets stressés, en fonction de la nature du stress (16). Ceci a été confirmé par Friel et al. (17) avec des valeurs β de 0,19 et de 0,20 g/L/h, ainsi que par Jones avec 0,19 g/L/h (18). En fonction de cette valeur moyenne de β exprimée en g/L/h, de l'alcoolémie A mesurée en g/L à un temps t exprimé en heures après l'ingestion, du poids P du sujet en kg, il est possible d'évaluer la quantité Q d'alcool consommée en grammes en appliquant la formule de Widmark (5) : $Q = Vd \times P (A + \beta t)$. Si l'on admet que g/kg et g/L sont peu différents, on peut remplacer dans la formule g/kg par g/L (la densité du sang est de 1,055).

Autres facteurs susceptibles de modifier l'alcoolémie

En dehors des facteurs génétiques susceptibles de faire varier le métabolisme oxydatif de l'éthanol évoqués précédemment, d'autres paramètres peuvent également modifier la cinétique globale de l'alcool dans l'organisme (2). Il s'agit en particulier de médicaments pouvant agir soit sur la vitesse d'absorption de l'éthanol, soit sur son métabolisme oxydatif hépatique par induction des CYP450. Il convient de mentionner que certains médicaments, voire des produits variés peuvent contenir de l'éthanol. Rappelons également que des boissons dites "sans alcool" peuvent renfermer des quantités non négligeables d'éthanol, puisque la réglementation autorise pour cette appellation une teneur maximale de 12 g/L (Art. L 3321-1 du Code de la santé publique).

Les voies métaboliques non oxydatives : les marqueurs directs de la consommation d'alcool

Si le métabolisme non oxydatif de l'éthanol est tout à fait accessoire pour l'élimination de l'alcool, il revêt désormais une grande importance au plan biologique, car il conduit dans le foie, le pancréas et divers tissus à la formation de quatre principaux groupes de biomarqueurs : l'éthylglucuronide (EtG), l'éthylsulfate (EtS), les phosphatidyléthanolols (PEth) et les esters

éthylques d'acides gras (FAEE). En effet, ces métabolites issus du métabolisme non oxydatif sont désormais utilisés dans des contextes variés à des fins médicales en biologie clinique et médico-légale (19-21). Leur analyse dans divers milieux (sang, urines, cheveux, ongles, méconium) permet de diagnostiquer et de suivre toute consommation récente ou ancienne d'alcool, mais également d'apprécier le niveau de consommation et sa chronicité éventuelle.

Éthylglucuronide (EtG)

L'éthanol se conjugue à l'acide glucuronique sous l'action d'une glucuronosyltransférase. L'EtG constitue aujourd'hui le biomarqueur direct d'une consommation d'alcool le plus utilisé en routine biologique. Il est issu d'un métabolisme tout à fait mineur de l'éthanol, dans un rapport de l'ordre de 1 %, ce qui explique qu'il a été longtemps ignoré en raison des très faibles concentrations d'EtG formées. En effet, à l'état d'équilibre, une alcoolémie de 1 g/L produit une concentration sanguine d'EtG de l'ordre de 1 mg/L. Bien que métabolite mineur, sa mesure revêt une importance capitale du fait de sa longue demi-vie dans le sang, où il est encore présent dans les milieux biologiques alors que l'alcool a totalement disparu. Chez des sujets ayant consommé de l'alcool à raison de 0,5 g d'éthanol par kilo de poids, la demi-vie terminale de l'EtG dans le sang est de 2,2 heures (22) ; elle est plus élevée chez des patients dépendants sevrés (3,3 heures) (23). L'EtG peut être dosé dans le sang, les urines, les cheveux, les ongles, le méconium. Comparativement à l'éthanol, il peut être détecté pendant une période beaucoup plus longue que ce dernier dans le sang et les urines. Ainsi après ingestion contrôlée de deux et de cinq unités alcooliques (20 g et 50 g d'éthanol respectivement) chez deux sujets, l'EtG est encore détectable dans le sérum 48 heures plus tard (24), alors que l'alcool est en moyenne éliminé du sang en trois heures (20 g) et six heures (50 g). Chez dix consommateurs d'alcool, une assez bonne corrélation est constatée entre la quantité d'alcool ingérée au cours des 50 dernières heures et l'EtG sérique ($r^2 = 0,77$) (24). Chez cinq malades hospitalisés en raison de complications liées à une consommation excessive d'alcool et qui avaient déclaré une abstinence, deux d'entre eux montraient la présence d'EtG (24). Sa mesure dans les urines constitue l'examen de choix pour la surveillance d'une consommation en milieu professionnel (25). Le dosage de l'EtG est également d'une importance capitale en médecine légale. En effet, il permet de mettre en évidence une alcoolisation récente, alors que l'éthanol

a totalement disparu du sang. Dans une série de 972 autopsies, Sundström et al. montrent dans 21 % des cas la présence d'EtG, alors que l'alcoolémie est négative (26). Dans un contexte médico-légal, en présence d'alcool, l'absence d'EtG permet d'affirmer une production post-mortem d'éthanol. L'EtG présente la caractéristique, lors de consommations répétées d'éthanol, de s'accumuler dans les cheveux. Depuis quelques années, la surveillance de cette consommation par la mesure de l'EtG dans les cheveux s'est développée, car cet examen s'est avéré être fiable, sensible et spécifique pour mettre en évidence une consommation chronique ; de plus, le prélèvement est facile, non invasif et la conservation des cheveux est excellente à température ambiante. Il constitue de ce fait un remarquable biomarqueur pour la recherche d'une consommation chronique, car il permet non seulement d'augmenter considérablement la fenêtre de détection, mais aussi d'évaluer l'importance de cette consommation. Sachant que la pousse moyenne des cheveux est de 1 cm par mois, l'analyse d'une mèche de 3 cm permet d'apprécier le niveau d'alcoolisation au cours des trois derniers mois. Dans son dernier consensus international, la Society of Hair Testing (SoHT) précise que des concentrations supérieures à 5 pg/mg de cheveux dans le segment 0-3 cm suggèrent fortement une consommation répétée d'alcool, alors que des concentrations supérieures à 30 pg/mg de cheveux témoignent d'une consommation chronique excessive correspondant à une consommation moyenne de 60 g ou plus d'éthanol par jour (critère OMS repris par la SoHT) (27). Dans le cadre de la sécurité routière, cet examen est pratiqué en routine dans de nombreux pays en Europe (Allemagne, Belgique, Italie, Suède, Suisse...) pour la restitution du permis de conduire, suite à son retrait pour un délit lié à la consommation d'alcool. En France, bien que cette possibilité soit offerte par le décret 2003-93 du 31 mars 2003 : "*Le préfet soumet à des examens médicaux, cliniques et biologiques, notamment salivaires et capillaires...*", complété par le décret 2012-886 du 17 juillet 2012 : "*Lors du contrôle médical, le médecin agréé ou la commission médicale peut prescrire tout examen complémentaire...*", nous constatons qu'elle n'est pas appliquée. Chez 40 sujets traités pour des pathologies consécutives à l'abus d'alcool, les concentrations capillaires se sont échelonnées de 1 à 1 149 pg/mg (28). Gomez-Roig et al. montrent chez 153 parturientes recrutées dans un CHU de Barcelone que la mesure de l'EtG dans les cheveux s'avère très supérieure au mode déclaratif pour évaluer l'exposition à l'alcool pendant la grossesse (2,6 % ont déclaré

en avoir consommé plus d'une fois, alors que 64,7 % d'entre elles présentaient une concentration supérieure à 7 pg/mg) (29). Le même constat a été réalisé par Ferraguti et al. en comparant le taux de réponse au questionnaire de consommation avec la mesure de l'EtG urinaire par immunoanalyse dans un CHU de Rome (30) et par Joya et al. par l'analyse segmentaire de l'EtG dans les cheveux dans un hôpital de Barcelone (31). Le dosage de l'EtG dans le méconium du nouveau-né s'avère extrêmement utile pour rechercher une consommation d'alcool pendant la grossesse. Ainsi, une concentration supérieure à 30 pg/mg de méconium est le signe d'une consommation maternelle d'alcool à partir de la 19^e semaine avec une sensibilité de 82 % et une spécificité de 75 % ; de plus, la concentration mesurée est corrélée à la quantité d'alcool consommé ($p < 0,001$) (32). Joya et al. ont également montré qu'il existait une très bonne corrélation entre les concentrations d'EtG dans le méconium des nouveau-nés (> 30 pg/mg) et les cheveux de la mère (> 11 pg/mg), ainsi l'exposition prénatale pouvait être prédite avec une sensibilité de 86 % et une spécificité de 74 % (33). Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par l'analyse du méconium néonatal. Dans une revue, Bager et al. confirment l'intérêt du dosage de l'EtG dans le méconium (34).

Éthylsulfate (EtS)

L'éthanol se fixe sur un groupement sulfate provenant de la phosphoadénosine-phosphosulfate sous l'effet d'une sulfotransférase. Ce métabolite, dont la mise en évidence chez l'homme a été faite pour la première fois en 2004 (35), peut être quantifié dans les milieux biologiques ou les phanères (19, 20). Les fenêtres de détection dans les milieux biologiques sont assez similaires à celles de l'EtG. Ainsi, après ingestion contrôlée de deux et de cinq unités alcooliques (20 g et 50 g d'éthanol respectivement) chez deux sujets, l'EtS est encore détectable dans le sérum 48 heures après ingestion (24), alors que l'alcool est en moyenne éliminé du sang en trois heures (20 g) et six heures (50 g). De plus, dans une série de dix consommateurs d'alcool, une assez bonne corrélation a été constatée entre la quantité d'alcool ingérée au cours des 50 dernières heures et l'EtS sérique ($r^2 = 0,95$) (24). Chez cinq malades hospitalisés en raison de complications liées à une consommation excessive d'alcool et qui avaient déclaré leur abstinence, deux d'entre eux montraient la présence d'EtS (24). Chez 40 sujets traités pour des pathologies consécutives à l'abus d'alcool, les concentrations capil-

lares se sont échelonnées de 24 à 1 776 pg/mg, soit des concentrations plus élevées que pour l'EtG (28). Chez les non-consommateurs d'alcool, les concentrations basales plus élevées que celles d'EtG doivent conduire à une grande prudence dans l'interprétation des résultats d'EtS capillaires, car l'on ne dispose à l'heure actuelle que d'un nombre très restreint d'études. L'EtS peut être également quantifié dans le méconium (36).

Phosphatidyléthanol (PEth)

L'éthanol présente la propriété de se lier aux phospholipides membranaires pour conduire à la formation de phosphatidylséthanol qui sont quantifiables dans les globules rouges. Il en existe trois principaux : PEth 16 :0/18 :1 (environ 42 %), PEth 16 :0/18 :2 (environ 26 %) et PEth 16 :0/20 :4 (environ 9 %) (37). L'intérêt majeur de ce marqueur direct est que son élimination du sang est particulièrement longue. Ainsi, chez des sujets hospitalisés pour désintoxication alcoolique ($n = 47$), la demi-vie d'élimination était comprise entre 3,7 et 10,4 jours pour PEth 16 :0/18 :1 et entre 2,7 et 8,5 jours pour PEth 16 :0/18 :2 (37). L'analyse est réalisée sur des spots de sang séchés (DBS ou *dried blood spots*) à partir d'une ponction capillaire faite au bout du doigt, dont la conservation est d'un an à température ambiante. En pratique, seul le dérivé le plus abondant est le plus souvent quantifié : PEth 16 :0/18 :1. Cet examen montre une sensibilité de 100 % en tant que biomarqueur d'alcoolisation pour une forte consommation récente d'alcool (37) ; mais c'est également un excellent marqueur pour mettre en évidence une alcoolisation modérée non récente. Ainsi, après ingestion contrôlée de deux et de cinq unités alcooliques (20 g et 50 g d'éthanol respectivement) chez deux sujets, le PEth est encore détectable dans le DBS, trois à quatre semaines après ingestion (24). De plus, dans une série de dix consommateurs d'alcool, une assez bonne corrélation est constatée entre la quantité d'alcool ingérée au cours du dernier mois et le PEth érythrocytaire ($r^2 = 0,77$) (24). Chez cinq malades hospitalisés en raison de complications liées à une consommation excessive d'alcool et qui avaient déclaré leur abstinence, trois d'entre eux montraient la présence de PEth (24). Le dosage de PEth sur DBS, comparé aux mesures urinaires d'EtG et d'EtS, s'avère être un paramètre biologique pertinent pour mettre en évidence toute rechute dans le cadre de la surveillance de l'abstinence (38). Les valeurs normales de PEth 16 :0/18 :1 sont inférieures à 20 ng/mL et la fenêtre de détection moyenne est de deux à trois semaines (39). Des concentrations comprises entre 20 et

40 ng/mL suggèrent une faible consommation (environ 3 unités alcooliques – UA – par semaine), de 41 à 100 ng/mL sont en faveur d'une consommation moyenne de 1 UA par jour, de 101 à 210 ng/mL évoquent 2 à 3 UA par jour, et au-delà de 210 ng/mL de 3 UA par jour (ou bien 10 UA trois ou quatre jours avant le prélèvement) (39). En raison de son élimination extrêmement tardive du sang, le PEth sanguin constitue l'examen de choix pour qualifier un donneur d'organe, afin d'éviter tout risque de rejet du greffon. Au seuil de 84 ng/mL de sang, la mesure de PEth 16 :0/18 :1 permet de discriminer de manière optimale les sujets présentant un mésusage d'alcool avec une sensibilité de 75 % et une spécificité de 97 % (40). En raison de l'intérêt qu'il suscite, cet examen a connu un fort développement au cours des dernières années.

Esters éthyliques d'acides gras (FAEE)

L'éthanol estérifie des acides gras sous l'action de synthétases d'esters éthyliques d'acides gras. Ces FAEE, en s'accumulant, vont provoquer des dégâts tissulaires. Leur dosage dans le sang, les cheveux ou le méconium est utilisé comme biomarqueur d'une consommation excessive d'alcool (19-21). Il s'agit d'un examen spécialisé pratiqué principalement chez nos voisins allemands. Parmi les FAEE, les plus nombreux sont les esters palmitique, myristique, oléique et stéarique d'éthyle. Les FAEE peuvent être quantifiés dans les cheveux (19, 20). Dans son dernier consensus international, la SoHT propose de ne retenir que l'éthyl palmitate (EtPa), comme marqueur d'alcoolisation dans ce milieu. Des concentrations d'EtPa supérieures à 120 pg/mg dans le segment 0-3 cm, suggèrent fortement une consommation répétée d'alcool, alors que des concentrations d'EtPa supérieures à 350 pg/mg de cheveux témoigneraient d'une consommation chronique excessive (27). Alladio et al. proposent après la mesure des FAEE et de l'EtG, plutôt que d'appliquer des seuils à ces deux paramètres, de calculer un rapport de vraisemblance à partir des deux valeurs pour identifier plus facilement les consommateurs chroniques d'alcool (41). L'analyse de ces FAEE peut également être pratiquée dans le méconium (32, 34).

Considérations générales sur les marqueurs directs d'alcoolisation

Cette mise au point montre l'intérêt majeur des marqueurs biologiques directs de consommation ou d'exposition à l'alcool. Leur grande spécificité est liée au fait

Tableau I : Marqueurs de choix en fonction du contexte

Contexte	Marqueur			
	Éthylglucuronide urinaire	Phosphatidyléthanol Spot de sang séché	Éthylglucuronide cheveux	Éthylglucuronide méconium
Abstinence	+	+		
Usage récent	+			
Usage ancien		+		
Profil de consommation		+	+	
Restitution du permis		+	+	
Certification d'un greffon		+		
Alcoolisation foetale			+ (mère)	+ (nouveau-né)
Alcoolisation sujet décédé	+			

qu'ils sont issus de la condensation directe de la molécule d'éthanol avec divers substrats : acide glucuronique, sulfate, phosphatidylcholines, acides gras. Leur mesure dans des milieux biologiques variés (urine, spot de sang séché, sang, cheveux, ongles, méconium) apporte une spécificité en lien avec l'usage d'alcool seulement, contrairement aux marqueurs biologiques traditionnels qui sont tous indirects (42). Parmi ces marqueurs spécifiques d'alcoolisation, le dosage de l'EtG urinaire occupe une place de choix, car il peut être réalisé en grande routine sur automate de laboratoire. Les dosages de ces quatre nouveaux marqueurs (EtG, PEth, EtS et FAEE) dans le sang, les cheveux, les ongles ou le méconium sont réalisés par chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS/MS). La mesure simultanée de ces quatre marqueurs est possible (43). Quelques indications du dosage d'EtG et de PEth sont synthétisées dans le tableau I.

Conclusion

Ces nouveaux marqueurs directs d'alcoolisation s'avèrent extrêmement utiles en pratique médicale et médico-légale quotidienne, en particulier :

- comme preuve formelle d'abstinence ;
- pour affirmer un usage récent ou ancien ;
- pour dresser un profil de consommation (régulière, excessive) ;
- dans le cadre de la procédure de restitution du permis de conduire ;
- afin de certifier un greffon ;
- pour le diagnostic d'alcoolisation foetale ;
- pour établir une preuve formelle d'alcoolisation chez un sujet décédé. ■

Liens d'intérêt. – Les auteurs déclarent l'absence de tout lien d'intérêt.

J.-P. Goullé, M. Guerbet

Dépistage biologique de la consommation d'alcool. Quoi de nouveau ?

Alcoologie et Addictologie. 2019 ; 41 (3) : 201-209

Références bibliographiques

- 1 - Bonaldi C, Hill C - La mortalité attribuable à l'alcool en France en 2015. *Bull Épidémiol Hebd*. 2019 ; 5-6 : 88-9.
- 2 - Goullé JP, Guerbet M. Éthanol : pharmacocinétique, métabolisme et méthodes analytiques. *Ann Pharm Fr*. 2015 ; 73 : 313-22.
- 3 - Mitchell MC, Teigen EL, Ramchandani VA. Absorption and peak blood alcohol concentration after drinking beer, wine, or spirits. *Alcohol Clin Exp Res*. 2014 ; 38 : 1200-4.

- 4 - Agence Française de Sécurité Sanitaire de l'Environnement et du Travail. Avis et rapport de l'Afsset relatif à l'évaluation des risques de l'éthanol en population professionnelle, 16-10-2010, pp 336. Maisons-Alfort : Anses ; 2010.
- 5 - Widmark EMP. Principles and applications of medicolegal alcohol determination. 1932. Davis, Calif. : Biomedical Publications ; 1987 : 107-8.
- 6 - Marshall AW, Kingstone D, Boss M, Morgan MY. Ethanol elimination in males and females: relationship to menstrual cycle and body composition. *Hepatology*. 1983 ; 3 : 701-6.
- 7 - Lhermitte M, Houdret N. Alcools et glycols : points communs et particularités des différents métabolismes. Journée scientifique "alcools et glycols" de la Société française de toxicologie analytique, Paris, 8 décembre 1999. *Ann Toxicol Anal*. 1999 ; (Numéro spécial) : 78-85.
- 8 - Kune GA, Vitetta L. Alcohol consumption and the etiology of colorectal cancer: a review of the scientific evidence from 1957 to 1991. *Nutr Cancer*. 1992 ; 18 : 97-111.
- 9 - Lieber CS. Microsomal ethanol-oxidizing system (MEOS): the first 30 years (1968-1998)-a review. *Alcohol Clin Exp Res*. 1999 ; 23 : 991-1007.
- 10 - Jones AW. Disappearance rate of ethanol from the blood of human subjects: implications in forensic toxicology. *J Forensic Sci*. 1993 ; 38 : 104-18. Erratum in : *J Forensic Sci*. 1994 ; 39 : 591.
- 11 - Al-Lanqawi Y, Moreland TA, McEwen J, Halliday F, Durnin CJ, Stevenson IH. Ethanol kinetics: extent of error in back extrapolation. *Br J Clin Pharmacol*. 1992 ; 34 : 316-21.
- 12 - Winek CL, Murphy KL. The rate and kinetic order of ethanol elimination. *Forensic Sci Int*. 1984 ; 27 : 159-66.
- 13 - Jones AW, Sternebring B. Kinetics of ethanol and methanol in alcoholics during detoxification. *Alcohol Alcohol*. 1992 ; 27 : 641-7.
- 14 - Gerchow J, Heifer U, Schewe G, Schwerd W, Zink P. Calculating the maximum blood alcohol concentration. Its application to evaluate the degree of impairment of responsibility. *Blutalkohol*. 1985 ; 22 (Suppl. 1) : 77-107.
- 15 - Giraudbit M. Communication personnelle.
- 16 - Breslin CF, Hayward M, Baum A. Effect of stress on perceived intoxication and the blood alcohol curve in men and women. *Health Psychol*. 1994 ; 13 : 479-87.
- 17 - Friel PN, Baer JS, Logan BK. Variability of ethanol absorption and breath concentrations during a large-scale alcohol administration study. *Clin Exp Res*. 1995 ; 19 : 1055-60.
- 18 - Jones AW. Elimination rate of alcohol from blood and variability in blood/breath ratios of alcohol in drinking drivers. Paper presented at 48th Annual Meeting of the American Academy of Forensic Sciences, Nashville, 1996.
- 19 - Andresen-Streichert H, Müller A, Glahn A, Skopp G, Sterneck M. Alcohol biomarkers in clinical and forensic contexts. *Dtsch Arztebl Int*. 2018 ; 115 : 309-15.
- 20 - Kummer N, Lambert WE, Samyn N, Stove CP. Alternative sampling strategies for the assessment of alcohol intake of living persons. *Clin Biochem*. 2016 ; 49 : 1078-91.
- 21 - Cabarcos P, Álvarez I, Tabernero MJ, Bermejo AM. Determination of direct alcohol markers: a review. *Anal Bioanal Chem*. 2015 ; 407 : 4907-25.
- 22 - Høiseth G, Bernard JP, Karinen R, Johnsen L, Helander A, Christophersen AS, Mørland J. A pharmacokinetic study of ethyl glucuronide in blood and urine: applications to forensic toxicology. *Forensic Sci Int*. 2007 ; 172 : 119-24.
- 23 - Høiseth G, Morini L, Poletтини A, Christophersen A, Mørland J. Blood kinetics of ethyl glucuronide and ethyl sulphate in heavy drinkers during alcohol detoxification. *Forensic Sci Int*. 2009 ; 188 : 52-6.
- 24 - Nguyen VL, Paull P, Haber PS, Chitty K, Seth D. Evaluation of a novel method for the analysis of alcohol biomarkers: ethyl glucuronide, ethyl sulfate and phosphatidylethanol. *Alcohol*. 2018 ; 67 : 7-13.
- 25 - Kilo S, Hofmann B, Eckert E, Göen T, Drexler H. Evaluation of biomarkers assessing regular alcohol consumption in an occupational setting. *Int Arch Occup Environ Health*. 2016 ; 89 : 1193-1203.
- 26 - Sundström M, Jones AW, Ojanperä I. Utility of urinary ethyl glucuronide analysis in post-mortem toxicology when investigating alcohol-related deaths. *Forensic Sci Int*. 2014 ; 241 : 178-82.
- 27 - Collectif. Consensus for the use of alcohol markers in hair for assessment of both abstinence and chronic excessive alcohol consumption. Joint meeting French Society of Analytical Toxicology, Society of Clinical Toxicology, Society of Hair testing, Toxicological Society of Belgium and Luxembourg, Lille, 21-24 may 2019.
- 28 - Cappelle D, Lai FY, Covaci A, Vermassen A, Crunelle CL, Neels H, van Nuijs ALN. Assessment of ethyl sulphate in hair as a marker for alcohol consumption using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Drug Test Anal*. 2018 ; 10 : 1566-72.
- 29 - Gomez-Roig MD, Marchei E, Sabra S, Busardò FP, Mastrobattista L, Pichini S, Gratacós E, Garcia-Algar O. Maternal hair testing to disclose self-misreporting in drinking and smoking behavior during pregnancy. *Alcohol*. 2018 ; 67 : 1-6.
- 30 - Ferraguti G, Ciolli P, Carito V, Battagliese G, Mancinelli R, Ciafrè S, Tirassa P, Ciccarelli R, Cipriani A. Ethylglucuronide in the urine as a marker of alcohol consumption during pregnancy: comparison with four alcohol screening questionnaires. *Toxicol Lett*. 2017 ; 275 : 49-56.
- 31 - Joya X, Mazarico E, Ramis J, Pacifici R, Salat-Battle J, Mortali C, Garcia-Algar O, Pichini S. Segmental hair analysis to assess effectiveness of single-session motivational intervention to stop ethanol use during pregnancy. *Drug Alcohol Depend*. 2016 ; 158 : 45-51.
- 32 - Himes SK, Dukes KA, Tripp T, Petersen JM, Raffo C, Burd L, Odendaal H, Elliott AJ, Hereld D, Signore C, Willinger M, Huestis MA. Clinical sensitivity and specificity of meconium fatty acid ethyl ester, ethyl glucuronide, and ethyl sulfate for detecting maternal drinking during pregnancy. *Clin Chem*. 2015 ; 61 : 523-32.
- 33 - Joya X, Marchei E, Salat-Battle J, Garcia-Algar O, Calvaresi V, Pacifici R, Pichini S. Fetal exposure to ethanol: relationship between ethyl glucuronide in maternal hair during pregnancy and ethyl glucuronide in neonatal meconium. *Clin Chem Lab Med*. 2016 ; 54 : 427-35.
- 34 - Bager H, Christensen LP, Husby S, Bjerregaard L. Biomarkers for the detection of prenatal alcohol exposure: a review. *Alcohol Clin Exp Res*. 2017 ; 41 : 251-61.
- 35 - Schneider H, Glatt H. Sulpho-conjugation of ethanol in humans in vivo and by individual sulphotransferase forms in vitro. *Biochem J*. 2004 ; 383 : 543-9.
- 36 - Bakhireva LN, Kane MA, Bearer CF, Bautista A, Jones JW, Garri-son L, Begay MG, Ozechowski T, Lewis J. Prenatal alcohol exposure prevalence as measured by direct ethanol metabolites in meconium in a Native American tribe of the southwest. *Birth Defects Res*. 2019 ; 111 : 53-61.
- 37 - Helander A, Böttcher M, Dahmen N, Beck O. Elimination characteristics of the alcohol biomarker phosphatidylethanol (peth) in blood during alcohol detoxification. *Alcohol Alcohol*. 2019 ; 54 : 251-7.
- 38 - Luginbühl M, Weinmann W, Butzke I, Pfeifer P. Monitoring of direct alcohol markers in alcohol use disorder patients during withdrawal treatment and successive rehabilitation. *Drug Test Anal*. 2019 ; 11 (6) : 859-69 ; doi : 10.1002/dta.2567.
- 39 - Augsburger M, Lauer E, Sporkert F, Déglon J, Thomas A. "Doctor, I do not understand the results of the test, because I swear I am not drinking alcohol." Truth or lie? Joint meeting French Society of Analytical Toxicology, Society of Clinical Toxicology, Society of Hair testing, Toxicological Society of Belgium and Luxembourg, Lille, 21-24 may 2019.
- 40 - Lowery EM, Walsh M, Yong M, Kovacs EJ, Joyce C, Afshar M. Use of alcohol biomarkers to identify alcohol misuse in organ donors. *Alcohol*. 2018 ; 73 : 67-72.
- 41 - Alladio E, Martyna A, Salomone A, Pirro V, Vincenti M, Zadora G. Evaluation of direct and indirect ethanol biomarkers using a likelihood ratio approach to identify chronic alcohol abusers for forensic purposes. *Forensic Sci Int*. 2017 ; 271 : 13-22.
- 42 - Zhang X, Zheng F, Lin Z, Johansen SS, Yu T, Liu Y, Huang Z, Li J, Yan J, Rao Y. Simultaneous determination of ethanol's four types of non-oxidative metabolites in human whole blood by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Anal Chim Acta*. 2017 ; 963 : 68-75.
- 43 - Kummer N, Wille SM, Poll A, Lambert WE, Samyn N, Stove CP. 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 and Alcohol Dependence*. 2016 ; 165 : 191-7.