

Lettre à la Rédaction / Letter to the Editor

Interprétation des concentrations d'éthyl glucuronide dans les cheveux

Interpretation of ethyl glucuronide concentrations in hair

Pascal Kintz*

X-Pertise Consulting, 84 route de Saverne, 67205 Oberhausbergen

Mots clés : Éthyl glucuronide, cheveux, interprétation, alcoolisme chronique

Key words: Ethyl glucuronide, hair, interpretation, chronic alcohol consumption

Reçu le 16 septembre 2010, accepté après modifications le 21 décembre 2010

Publication en ligne le 15 février 2011

1 Introduction

Après administration, l'éthanol est essentiellement métabolisé par le foie (90–95 %), les reins (0,5–2 %), les poumons (0,5–6 %) et la peau (0,5 %) pour donner de l'eau et du gaz carbonique. Une très faible quantité d'éthanol (moins de 0,5 %) peut être éliminée sous forme d'éthyl glucuronide, un métabolite de phase II [1].

Contrairement aux marqueurs sanguins classiques (VGM, γ GT), l'éthyl glucuronide est un marqueur spécifique de l'éthanol. En effet, ce produit direct de transformation n'est pas inductible par les médicaments (qui peuvent augmenter les γ GT) et n'est pas fonction de l'état pathologique du sujet (malade hépatique, diabétique, cancéreux...). Il n'y a pas de grande variabilité biologique individuelle dans la formation de l'éthyl glucuronide.

Il est désormais admis par la communauté scientifique internationale que la présence d'éthyl glucuronide dans les cheveux peut démontrer une abstinence à l'éthanol, mais aussi une consommation habituelle excessive [2, 3].

La concentration d'éthyl glucuronide dans les cheveux, associée à un seuil de positivité de 30 pg/mg (selon le consensus du 16 juin 2009 établi par la Society of Hair Testing, SoHT), permet de discriminer les buveurs excessifs chroniques du reste de la population [4].

La mise en place pratique de cette expertise pose néanmoins de nombreux problèmes d'interprétation qui seront passés en revue dans cette lettre à la rédaction.

2 Matériel et méthode

L'éthyl glucuronide est recherché et quantifié selon notre procédure décrite précédemment [5].

Brièvement, chaque échantillon a été décontaminé par deux bains successifs de 2 min aux ultrasons avec du dichlorométhane et du méthanol et un rinçage au dichlorométhane. Il est ensuite coupé en fragments inférieurs à 1 mm. Les segments (30 mg) ont ensuite été incubés 2 h au bain à ultrasons dans 2 mL d'eau en présence d'un étalon interne (10 ng d'éthyl glucuronide- d_5). Les extraits sont purifiés par SPE sur cartouche Oasis MAX (Waters). La phase organique d'élution (méthanol – acide formique 2 %) est évaporée à sec et le résidu repris par 200 μ L d'acétonitrile – tampon formiate.

L'analyse de ces échantillons est réalisée par LC-MS/MS sur un système Quantum Ultra (Thermo Fischer). Dix μ L sont injectés (pompe Accela) et l'élution est réalisée sur une colonne ACQUITY BEH HILIC (2,1 \times 100 mm) avec un gradient acétonitrile/tampon formiate pH 3,0. La détection est réalisée par spectrométrie de masse tandem, avec une interface de type électrospray en mode négatif. L'acquisition est réalisée en mode MRM (*multiple reaction monitoring*).

La méthode est linéaire sur la gamme 20 à 2000 pg/mg avec une limite de quantification validée à 20 pg/mg.

3 Expertises

Les 2 expertises suivantes illustrent les difficultés à établir des critères définitifs.

Expertise 1 : homme censé abstinente, de 43 ans, testé selon 2 segmentations différentes à une semaine d'intervalle.

* Correspondance : Pascal Kintz, pascal.kintz@wanadoo.fr

La première analyse d'éthyl glucuronide a donné : 0–1 cm = 24 pg/mg, 1–2 cm < LOQ, et 2–3 cm < LOQ. La seconde analyse a donné : 0–3 cm < LOQ.

Ces résultats apparaissent comme discordants, puisqu'une concentration d'éthyl glucuronide à 24 pg/mg est généralement considérée comme le témoin d'une consommation répétée d'éthanol [3]. L'implication des traitements cosmétiques, connus pour faire chuter de façon très importante les concentrations d'éthyl glucuronide [6], n'a pas été retenue, les 2 mèches étant identiques en couleur (brune), en longueur (6 cm) et au microscope.

La segmentation variable (1 × 3 cm et 3 × 1 cm), qui peut conduire à une dilution ou à une concentration a été considérée comme susceptible d'expliquer les différences entre les 2 mesures. La SoHT, dans son consensus, précise que l'analyse doit porter sur le segment proximal, d'une longueur de 3 cm. Il est donc très important de ne pas faire d'analyse d'éthyl glucuronide sur un segment trop court de cheveu, en particulier en faisant de la segmentation sur des portions de 3 ou 5 mm.

Enfin, il n'est pas possible d'exclure une alcoolisation très importante sur un seul jour dans la semaine précédant le prélèvement et une contamination par la sueur, riche en éthyl glucuronide [7].

Expertise 2 : femme musulmane, en théorie abstinente totale, dans un contexte de garde d'enfants, testée sur 0–3 cm dans 2 laboratoires différents. Les mèches ont été prélevées en même temps, sont d'aspect identique (couleur noire, longueur 8 cm) mais ont été analysées à 6 mois d'intervalle. Labo 1 : éthyl glucuronide = 22 pg/mg ; labo 2 : FAEE (esters éthyliques d'acides gras, ou autre marqueur de l'éthylisme chronique) < 0,1 ng/mg = LOQ (soit un résultat totalement négatif, puisque la SoHT reconnaît un seuil de positivité à 0,5 ng/mg pour la somme des esters myristate, palmitate, oléate et stéarate).

L'intéressée a contesté la positivité de la première analyse et c'est pourquoi une deuxième mesure indépendante a été entreprise. Comme suggéré par Pragst et al. [8], la combinaison éthyl glucuronide/FAEE renforce de façon majeure le diagnostic.

Dans ce cas, il a été conclu à l'absence de consommation d'éthanol, sans qu'il soit possible d'expliquer le résultat positif pour l'éthyl glucuronide. Il se pourrait néanmoins, que la mesure des FAEE soit moins sensible que celle de l'éthyl glucuronide à une alcoolisation ponctuelle.

4 Discussion

L'interprétation des concentrations d'éthyl glucuronide dans les cheveux est délicate pour deux types de raisons :

- Difficultés analytiques : l'éthyl glucuronide est une molécule polaire, mal incorporée de ce fait dans les cheveux, dont les concentrations sont basses et qui est soluble dans l'eau et donc les shampoings. Enfin, l'éthyl glucuronide est très sensible aux traitements cosmétiques, à la baisse (coloration, décoloration, permanente...) comme à la hausse en cas d'utilisation d'une solution de friction contenant de l'éthanol, par exemple [9]. Néanmoins, dans cette dernière étude, le seuil de positivité à 30 pg/mg n'a pas été franchi.

- Difficultés pharmaco-toxicologiques : malgré la publication de plusieurs articles [10–12], il manque dans la littérature des études contrôlées de type dose ingérée – concentration dans les cheveux. Par ailleurs, les publications ne sont pas interchangeables, la population étudiée pouvant être des sujets en cure de désintoxication, des sujets « tous venants », des sujets accidentés de la voie publique ou encore des sujets sur la table d'autopsie. Enfin, il est incontestable qu'il existe un recouvrement (pas toujours évident) des concentrations entre les sujets abstinents et les buveurs occasionnels (consommateur social) et entre les buveurs occasionnels et les buveurs chroniques excessifs. Néanmoins, il est intéressant de constater que même sur ces groupes de sujets très différents, une corrélation significative a pu être observée entre quantité ingérée et concentration dans les cheveux, permettant d'insister sur l'intérêt de l'éthyl glucuronide comme marqueur de consommation.

À la question « ce sujet est-il alcoolique ? », les éléments suivants permettent une approche scientifique de la réponse :

- Quelle est la définition scientifique ou clinique de l'alcoolisme chronique ?

Selon la nomenclature (Organisation Mondiale de la Santé, Société Française d'Alcoologie), l'alcoolisme, l'alcoolodépendance ou encore la maladie alcoolique se définit comme l'addiction à l'éthanol contenu dans les boissons alcoolisées. L'alcoolisme chronique est la consommation d'éthanol régulière et chronique, plus ou moins excessive. La consommation excessive est une habitude de consommation qui dépasse les limites de ce qui est considéré comme une consommation modérée ou socialement acceptable.

En 2007, la MILDT a considéré comme conduite à risque la consommation de 2 à 3 verres standards par jour. Selon la Société Française d'Alcoologie (2009), le seuil de risque est à 3 unités par jour pour l'homme et à 2 unités par jour pour la femme, l'unité correspondant à 10 g d'éthanol. Ces chiffres ont été repris dans une version hebdomadaire par l'Organisation Mondiale de la Santé (2007), dans le contexte de mésusage.

- L'éthyl glucuronide est-il un marqueur spécifique à 100 % de la consommation répétée d'alcool éthylique ?

L'éthyl glucuronide est un métabolite de phase II. En théorie, sa détection ne peut donc correspondre qu'à une consommation d'éthanol et cette mesure est aujourd'hui appliquée dans de nombreux laboratoires européens, essentiellement dans le cadre de la restitution du permis de conduire, les accidents du travail et la garde des enfants. Le peu de contestation des résultats fait penser que ce paramètre est acceptable dans l'arsenal biologique.

Les trop rares études dose/concentration mettent en avant une distribution très large et un chevauchement des concentrations, ce qui ne permet pas de réponse catégorique et définitive.

Au moins une voie de production exogène a été décrite [9] après friction par des solutions contenant de l'alcool éthylique comme solvant. La valeur absolue d'une concentration d'éthyl glucuronide doit donc tenir compte de cette possibilité.

Afin de limiter les faux positifs et les faux négatifs, la mesure concomitante des FAEE apparaît comme une avancée discriminante. Néanmoins, les FAEE ne peuvent pas être mesurés en cas d'usage de lotions capillaires contenant de l'éthanol,

puisque ces marqueurs peuvent se former de façon spontanée au niveau du cuir chevelu par interaction chimique simple.

- Quelle place pour les poils d'une autre origine anatomique ?

Les poils pubiens semblent plus sensibles que les cheveux de la tête pour mettre en évidence une consommation d'éthanol [5]. En effet, la gamme des concentrations d'éthyl glucuronide varie de 5 à 5000 pg/mg pour les poils pubiens versus 4 à 300 pour les cheveux. L'origine de cet enrichissement est à rapprocher d'une contamination externe par l'urine. Les autres poils (axillaires, torse, jambes) se comportent comme les cheveux [5, 13]. La plus grande dynamique de mesure dans les poils pubiens permet donc une meilleure discrimination lorsque les concentrations sont faibles, en particulier s'il y a lieu de démontrer une abstinence. Par contre, il n'est pas possible d'établir un profil de consommation basé sur un résultat dans les poils pubiens, du fait de la forte implication de la contamination.

Enfin, il convient de ne surtout pas chercher à comparer des concentrations obtenues à partir de poils pubiens avec des mesures dans la littérature faites sur les cheveux. Le seuil de positivité de la SoHT ne peut donc pas s'appliquer aux poils pubiens.

5 Conclusion

Plus encore que pour les stupéfiants, la valeur absolue d'une concentration d'éthyl glucuronide dans les cheveux est à prendre avec des précautions d'usage. Le récent consensus de la SoHT ne s'applique que dans des situations très standardisées.

À ce jour, il apparaît comme peu scientifiquement acceptable d'établir à partir d'une seule mesure de l'éthyl glucuronide, la consommation d'éthanol d'un individu.

Ainsi, si l'éthyl glucuronide n'apparaît pas pour le moment comme le marqueur parfait pour caractériser la consommation d'alcool éthylique, il n'en reste pas moins le plus pertinent, comparé aux autres paramètres sanguins ou capillaires. L'éthyl glucuronide est à ce jour le seul paramètre qui reste positif sur une longue durée en cas de consommation « sociale » d'éthanol.

Références

1. Kamil IA, Smith NJ, Williams RT. A new aspect of ethanol metabolism: isolation of ethyl glucuronide. *Biochem.* 1952; J.51: 32-33.
2. Agius R, Nadulski T, Kahl HG, Schröder J, Dufaux B, Yegles M, Pragst F. Validation of a headspace solid-phase microextraction-GC-MS/MS for the determination of ethyl glucuronide in hair according to forensic guidelines. *Forensic Sci Int.* 2010; 196: 3-9.
3. Yegles M, Labarthe A, Auwärter V, Hartwig S, Vater H, Wennig R, Pragst F. Comparison of ethyl glucuronide and fatty acid ethyl ester concentrations in hair of alcoholics, social drinkers and teetotalers. *Forensic Sci Int.* 2004; 145: 167-173.
4. http://www.soht.org/pdf/Consensus_EtG_2009.pdf, consulté le 16 septembre 2010.
5. Kintz P, Villain M, Vallet E, Etter M, Cirimele V. Ethyl glucuronide: unusual distribution between head hair and pubic hair. *Forensic Sci Int.* 2008; 176: 87-90.
6. Morini L, Zucchella A, Poletti A, Politi L, Groppi A. Effect of bleaching on ethyl glucuronide in hair: an *in vitro* experiment. *Forensic Sci Int.* 2010; 198: 23-27.
7. Schummer C, Appenzeller BM, Wennig R. Quantitative determination of ethyl glucuronide in sweat. *Ther Drug Monit.* 2008; 30: 536-539.
8. Pragst F, Rothe M, Moench B, Hastedt M, Herre S, Simmert D. Combined use of fatty acid ethyl esters and ethyl glucuronide in hair for diagnosis of alcohol abuse: Interpretation and advantages. *Forensic Sci Int.* 2010; 196: 101-110.
9. Yegles M, Schneider S, Wennig R. Ethyl glucuronide determination in hair: role of lotions containing ethanol. International Meeting of the Society of Hair Testing, Roma, 14 to 16 June 2009.
10. Politi L, Morini L, Leone F, Poletti A. Ethyl glucuronide in hair: Is it a reliable marker of chronic high levels of alcohol consumption? *Addiction.* 2006; 101: 1408-1412.
11. Appenzeller BM, Agirman R, Neuberg P, Yegles M, Wennig R. Segmental determination of ethyl glucuronide in hair: a pilot study. *Forensic Sci Int.* 2007; 173: 87-92.
12. Liniger B, Nguyen A, Friedrich-Koch A, Yegles M. Abstinence monitoring of suspected drinking drivers: ethyl glucuronide in hair versus CDT. *Traffic Inj Prev.* 2010; 11: 123-126.
13. Kerekes I, Yegles M, Grimm U, Wennig R. Ethyl glucuronide determination: head hair versus non-head hair. *Alcohol.* 2009; 44: 62-66.