

Lettre à la rédaction

Ethyl glucuronide (marqueur de l'alcoolisme chronique) et poils. Une distribution surprenante

Ethyl glucuronide (a chronic alcohol consumption marker): unusual distribution between head hair and pubic hair

Pascal Kintz*, Marion Villain, Vincent Cirimele

Laboratoire ChemTox, 3 rue Gruninger, 67400 Illkirch, France

Mots clés : Ethyl glucuronide, cheveux, poils, alcoolisme chronique

Key words: Ethyl glucuronide, hair, chronic alcohol consumption

Reçu le 13 février 2008, accepté après modifications le 28 février 2008
Publication en ligne le 6 juin 2008

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 démontre la consommation habituelle d'éthanol, en particulier pour une quantité supérieure à 50 g par jour. Une simple mèche de cheveux, orientée, permet donc d'établir le profil addictif à la boisson alcoolisée d'un individu [2-6].

Matériel et méthode

Une mèche de cheveux et des poils de diverses localisations anatomiques ont été prélevés sur un sujet pouvant être classé comme un buveur occasionnel (*social drinker*). 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 (50 mg) ont ensuite été incubés 2 heures 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'éluion (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'éluion 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*).

Les ions parents sélectionnés et les ions fils détectés sont donnés dans le tableau I.

Résultats et discussion

L'éthyl glucuronide étant une molécule très hydrophile, la séparation en phase normale s'impose.

La linéarité de la méthode a été vérifiée de 20 à 2000 pg/mg ($r^2 = 0,9991$). La limite de détection est de 2 pg/mg pour une limite de quantification à 10 pg/mg. Cette concentration a été évaluée à partir d'une déviation inférieure à 20 % de la droite de calibration. La répétabilité ($n = 6$) à 50 pg/mg est de

* Correspondance : Pascal Kintz,

Tél. 03 90 400 540, Fax 03 90 400 541, pascal.kintz@wanadoo.fr

Tableau I. Paramètres d'analyse.

Molécules	Ion parent (<i>m/z</i>)	Ions fils (<i>m/z</i>)	Tr (min)	Tension de cône (V)	Énergie de collision (eV)
EtG	221	85 - 75	3,81	109	16 / 13
EtG-d ₅	226	85 - 75	3,82	106	16 / 16

Tableau II. Résultats (en pg/mg).

Type de poils	Concentration en éthyl glucuronide
Cheveux (vertex)	< limite de détection
Poils pubiens	1370 pg/mg
Poils axillaires	< limite de détection
Poils poitrine	< limite de détection
Poils avant bras	< limite de quantification (6 pg/mg)
Poils jambes	< limite de quantification (4 pg/mg)

23.3 %. La suppression d'ions (*n* = 10) est de l'ordre de 20 à 50 %, en particulier dans le cas de cheveux colorés.

Le laboratoire ChemTox utilise à ce jour un seuil de positivité dans les cheveux à 50 pg/mg. Ce seuil, indicateur d'une consommation excessive et répétée d'éthanol est susceptible d'être revu à la baisse dans le cadre d'un consensus international de la Society of Hair Testing.

L'analyse des cheveux et des poils met en évidence une distribution inattendue de l'éthyl glucuronide en fonction de la nature anatomique des phanères. La concentration d'éthyl glucuronide dans les poils pubiens excède de plusieurs magnitudes celle dans les autres poils. Les résultats sont détaillés dans le tableau II. Depuis, ces résultats ont été confirmés pour d'autres séries de poils [7].

Conclusion

L'usage de phanères autres que les cheveux ne peut se faire valablement qu'après une minutieuse vérification de la distribution des xénobiotiques selon la matrice utilisée.

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. Jurado C, Soriano T, Gimenez MP, Menendez M. Diagnosis of chronic alcohol consumption. Hair analysis for ethyl glucuronide. *Forensic Sci Int.* 2004; 145: 161-166.
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 teetotallers. *Forensic Sci Int.* 2004; 145: 167-173.
4. Morini L, Politi L, Groppi A, Stramesi C, Poletini A. Determination of ethyl glucuronide in hair samples by liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry. *J Mass Spectrom.* 2006; 41: 34-42.
5. Pragst F, Yegles M. Alcohol markers in hair. In: Kintz P (Ed.), *Analytical and practical aspects of drug testing in hair*, Boca Raton: CRC Taylor and Francis 2007: 287-323.
6. Appenzeller B, Agirman R, Neuberger P, Yegles M, Wennig R. Segmental determination of ethyl glucuronide in hair: a pilot study. *Forensic Sci Int.* 2007; 173: 87-92.
7. 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.