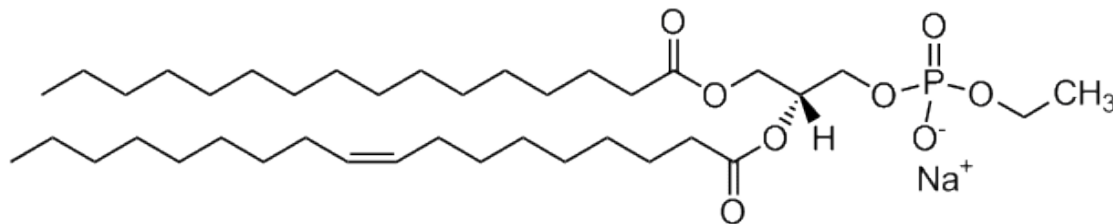


B-PEth 16-0_18-1 (fosfatidyletanol)

Bakgrund/Svar/Tolkning/Bedömning

Fosfatidyletanol (PEth) är en grupp av glycerofosfolipider som karakteriserad av att två fettsyror och en fosforyl-etyl-grupp är bundna till ett glycerolskelett. Eftersom de två ingående fettsyrorerna kan variera i antal kol och i mättnadsgrad medför detta att PEth består av ett större antal olika molekylära former varav ett flertal har identifierats med masspektrometri [1]. PEth bildas i cellmembran i närvaro av etanol i en reaktion som katalyseras av fosfolipas D (PLD). Reaktionen är en transfosfatidylation där fosfatidylkolin är substratet och fosfatidyletanol och kolin är de bildade produkterna. Eftersom fosfatidyletanol endast kan bildas i närvaro av etanol så är den kliniska specificiteten av fosfatidyletanol som alkoholmarkör teoretiskt 100 %. Inga falska positiva utfall har påvisats [2-5]. Vid regelbunden alkoholkonsumtion/missbruk ansamlas PEth i röda blodkroppar och ju kraftigare alkoholkonsumtion/missbruk desto högre koncentration [2]. PEth har visat sig vara en känsligare markör (högre sensitivitet) för alkoholmissbruk än CDT och GT eller dessa i kombination [2, 4, 6]. Halveringstiden för PEth i blod är c:a 4 dagar och PEth kan påvisas flera veckor efter avslutat alkoholintag. Gränsen för lägsta utlämnat värde är satt till 0,050 $\mu\text{mol/L}$ PEth 16:0/18:1 och värden över 0,30 $\mu\text{mol/L}$ anses för närvarande representera en alkoholkonsumtion som är mer än måttlig, d.v.s. överskrider gränsen för riskbruk. Det finns många olika former av PEth och benämningen av de olika formerna sker enligt följande exempel: "1-Palmitoyl-2-Oleoyl-sn-glycero-3 fosfatidyletanol" som kallas i kort form "PEth 16:0/18:1", vilket innebär att en mättad fettsyra med 16 kol och ingen dubbelbindning sitter i 1-position på glycerolskelettet medan en enkelomättad med 18 kol sitter i 2-position. Just denna form utgör cirka hälften av den totala PEth-halten i blod. Koncentrationer $>0,30 \mu\text{mol/L}$ innebär att alkoholkoncentrationen är mer än måttlig. Ett enstaka berusningstillfälle (1,0–1,5 %) ger inte upphov till koncentrationer över 0,30 $\mu\text{mol/L}$, varken akut eller under efterföljande dygn. Mätvärden över 0,30 $\mu\text{mol/L}$ korrelerar med rapporterad alkoholkonsumtion under de närmast föregående två veckorna [2]. I och med att gränsen för lägsta utlämnade värde är 0,050 $\mu\text{mol/L}$ innebär det att även socialt accepterat

alkoholbruk kan komma att generera ett numeriskt värde.



Metodik/mätprincip

PEth extraheras ur helblod, tillsammans med andra lipider, med organiskt lösningsmedel samtidigt som blodets proteiner fälls. Efter centrifugering analyseras supernatanten med masspektrometri (LC-MS/MS), en teknik med god känslighet och mycket hög specificitet. LC-MS/MS instrumentet är av typen trippel kvadrupol masspektrometer kopplat till en HPLC.

Separation av olika provmolekyler sker i en LC-kolonn. Provmolekyler som bildar negativa joner joniseras i jonkällan. Joniseringen sker enligt principen API ES (atmospheric pressure ionisation electrospray). I första kvadrupolen selekteras molekylijonen för PEth 16:0/18:1. I andra kvadrupolen fragmenteras molekylijonen med en för denna jon specifik energi. I tredje kvadrupolen selekteras två av molekylijonens fragment, 281 för kvantifiering och 255 för kvalificering Den resulterande jonintensiteten mäts med en elektronmultiplikator.

Interferenser och felkällor

Påverkan av hyperlipidemi, hyperbilirubinemi och uremi är inte testad men antas inte finnas på grund av den höga specificiteten i LC-MS/MS teknologin.

Mätområde

Analys	Kvantifieringsgräns ($\mu\text{mol/L}$)	Mätintervall ($\mu\text{mol/L}$)
B-PEth 16:0/18:1	0,025	0,050-3,0

Mätintervall är det område där numeriska svar lämnas. Vid koncentrationer över 3,0 $\mu\text{mol/L}$ PEth 16:0/18:1 analyseras provet om efter en spädning på högst 10 gånger.

Kvantifieringsgränsen är satt till 0,025 $\mu\text{mol/L}$ men rapporteringsgränsen ut till kund är 0,05 $\mu\text{mol/L}$. Värden under rapporteringsgränsen rapporteras som <0,050 $\mu\text{mol/L}$.

Mätosäkerhet (enligt årsgenomgång för 2023)

Komponent	Låg kontroll		Hög kontroll		Poolad kontroll	
	Börvärde ($\mu\text{mol/L}$)	CV%	Börvärde ($\mu\text{mol/L}$)	CV%	Börvärde ($\mu\text{mol/L}$)	CV%
PEth 16:0/18:1	0,050	6,9	2,0	6,1	0,57	6,5

Kontrollförfarande

En kontroll av vardera sorten analyseras per analysomgång. Alla tre kontrollerna analyseras en gång före och en gång efter patientproverna i en analysomgång. Interna kontroller följs upp löpande inom laboratoriets kvalitetssystem (QM).

Riktighet

Riktigheten kontrolleras genom deltagande i externt kontrollprogram (Equalis) 4 gånger/år.

Spårbarhet

Phosphatidylethanol 16:0/18:1, Analyscertifikat från tillverkare Enzo, Cerilliant samt Chiron.

Validering

Validering har utförts vid Labmedicin Skåne, Klinisk kemi, Lund [9, 10].

Övrig information

Metoden är ackrediterad.

Referenslitteratur

1. Gnann H, Engelmann C, Skopp G, Winkler M, Auwärter V, Dresen S, Ferreirós N, Wurst FM, Weinmann W. Identification of 48 homologues of phosphatidylethanol in blood by LC-ESI-MS/MS. *Anal Bioanal Chem.* 2010 Apr;396(7):2415-23
2. Aradottir S, Asanovska G, Gjerss S, Hansson, P and Alling C. (2006) Phosphatidylethanol (PEth) concentrations in blood are correlated to reported alcohol intake in alcohol dependent patients, *Alcohol*, 41, 431-437.
3. Varga A, Hansson P, Lundqvist C, and Alling C (1998). Phosphatidylethanol in blood as a marker of ethanol consumption in healthy volunteers: comparison with other markers. *Alcohol Clin Exp Res*, 22 (8), 1832-1837.
4. Hartmann S, Aradottir S, Graf M, Wiesbeck G, Lesch O, Wolfersdorf M, Alling C, Wurst FM (2007). Phosphatidylethanol as a sensitive and specific biomarker: comparison with gammaglutamyl transpeptidase, mean corpuscular volume and carbohydrate-deficient transferrin. *Addict Biol*, 12 (1), 81-84.
5. Varga A, Hansson P, Johnson G, Alling C (2000). Normalization rate and cellular localization of phosphatidylethanol in whole blood from chronic alcoholics. *Clin Chim Acta*, 299 (1-2), 141-150.
6. Isaksson A, Walther L, Hansson T, Andersson A, Alling C (2011). Phosphatidylethanol in blood (B-PEth): A marker for alcohol use and abuse. *Drug Test Anal* 3 (4), 195-200.