

Fosfatidyletanol i blod (B-PEth) – ny markör för alkoholmissbruk



ANDERS ISAKSSON, docent, överläkare
anders.isaksson@skane.se
LISA WALTHER, ST-läkare
CHRISTER ALLING, professor emeritus

THERESE HANSSON, tekn dr, kemist; i samtliga fall, Klinisk kemi och farmakologi, Universitets-sjukhuset i Lund

I Europa dricks det mer än dubbelt så mycket alkohol som i någon annan världsdel [1]. Man beräknar att omkring 600 000 personer i Europa dog i förtid på grund av alkoholorsakade sjukdomar år 2002 [1]. Än värre är att cirka 10 procent av all sjuklighet i Europa beräknas vara orsakad av alkohol [1]. Statistik för 2007 visar att minst 34 procent av alla motorfordonsförare som omkom i trafikolyckor i Sverige hade alkohol i blodet [2]. År 2006 uppskattades att 17 procent av männen och 10 procent av kvinnorna i Sverige hade riskabla alkoholvanor, det vill säga de hade ett genomsnittligt intag av ren alkohol motsvarande >20 g för kvinnor och >40 g/dag för män [3].

Alkoholberoendet/missbruket får konsekvenser även för familj, anhöriga och vänner. Det finns således tungt vägande skäl för att vara observant på alkohol som orsak till sjukdom och olycksfall såväl som på dess negativa sociala effekter.

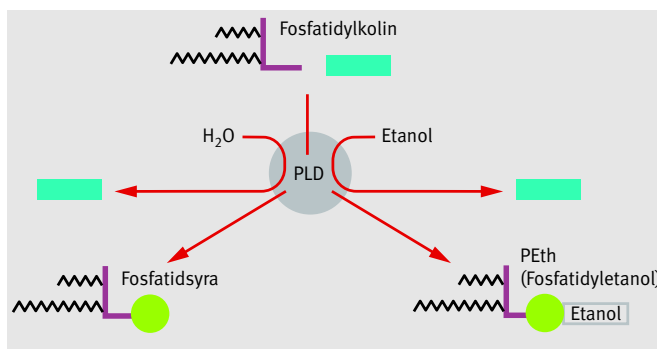
Vägledning vid utredning av misstänkt alkoholberoende/missbruk kan fås bland annat av symtom, sjukhistoria, självrapportformulär, speciella frågeformulär som AUDIT, CAGE och MAST, och av biokemiska alkoholmarkörer. Rätt använd kan en bra alkoholmarkör ge korrekt diagnos och därmed skapa förutsättningar för ändamålsenliga insatser på ett tidigt stadium.

Biokemiska alkoholmarkörer

Påvisande av etanol i blod, urin eller utandningsluft är 100 procent specifikt för alkoholintag, men sensitiviteten är hög endast under ett begränsat antal timmar efter intaget på grund av den snabba eliminationen av etanol. Bland annat på grund av dessa begränsningar har ett flertal andra biokemiska markörer som γ -GT (γ -glutamyltransferas), MCV (mean corpuscular volume, medelcellvolym), ASAT (aspartataminotransferas), ALAT (alaninaminotransferas) och under den senaste 10–20 årsperioden även CDT (carbohydrate-deficient transferrin, kolhydratfattigt transferrin) kommit till användning som markörer för alkoholmissbruk.

Gemensamt för dessa är emellertid deras låga sensitivitet, det vill säga de blir inte positiva förrän vid mycket kraftig alkoholkonsumtion, och en stor andel högkonsumenter kan därför ha normala värden. Frånsett för CDT är även specificiteten låg, vilket betyder att ett förhöjt värde i en betydande del av fallen har en annan orsak än alkohol.

»Redan för 100 år sedan var det känt att en liten del av etanol eliminationen kunde ske genom konjugering med glukuronsyra och utsöndring i urin.«



Figur 1. Schematisk bild över bildningen av fosfatidyletanol (PEth) från fosfatidylkolin. Normalt spjälkar enzymet fosfolipas D (PLD) fosfatidylkolin i närvaro av vatten (H_2O) till fosfatidsyra. I närvaro av alkohol (etanol) syntetiserar dock enzymet PLD fosfatidyletanol (PEth) från fosfatidylkolin.

På grund av dessa brister har man sökt efter nya och bättre alkoholmarkörer. Nuvarande alkoholmarkörer (γ -GT, ASAT, ALAT och MCV) avspeglar alkoholens toxiska effekter på olika organsystem, framför allt lever och benmärg, medan CDT-ökningen vid alkoholmissbruk kan hänföras till en alkoholeffekt på normala molekylers uppbyggnad genom en etanolmedierad påverkan på syntesen av transferrin.

Nya alkoholmarkörer

Som antytts ovan kan det finnas behov av mer specifika och känsliga alkoholmarkörer. Sådana skulle till exempel kunna utgöras av omsättningsprodukter som är direkt relaterade till etanol men med längre halveringstid i blodbanan.

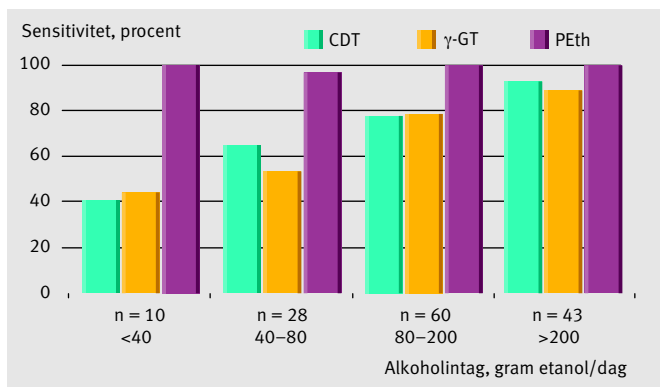
En välkänd oxidativ metabolit av etanol är acetaldehyd, vilken kan mätas i både fri och bunden form. I sin bundna form kan den mätas som acetaldehydaddukter till proteiner, men användbarheten som alkoholmarkör är inte närmare utvärderad bland annat av metodologiska skäl.

Redan för 100 år sedan var det känt att en liten del av etanol eliminationen kunde ske genom konjugering med glukuronsyra och utsöndring i urin. För 20–30 år sedan konfirmerades denna eliminationsväg genom påvisandet av etylglukuronid (EtG) i urin. Under de senaste 10 åren har det kommit en rad-

SAMMANFATTAT

Fosfatidyletanol (PEth) kan bildas bara i närvaro av etanol. Specificiteten är hög (teoretiskt 100 procent). **Falskt positiva resultat** har inte påvisats, och sensitiviteten är högre än för CDT, MCV och γ -GT såväl var för sig som i kombination. **Det finns ett samband** mellan

redovisad alkoholkonsumtion de senaste 2 veckorna före provtagningen och mätvärdet. **Ett enstaka berusningstillfälle** ger inga mätbara halter av PEth. Halveringstiden är cirka 4 dygn. PEth kan, beroende på utgångsvärde, påvisas upp till 4 veckor efter avslutat alkoholintag.



Figur 2. Sensitiviteten i procent för CDT, γ -GT och PEth visas i förhållande till alkoholintag (gram etanol/dag). Sensitiviteten visas vid fyra olika nivåer av genomsnittligt alkoholintag (från låg eller måttligt till mycket hög konsumtion) under de senaste två veckorna före provtagningen. Använda beslutsgränser är 0,22 $\mu\text{mol/l}$ för PEth, 1,7 procent för CDT, disialo (HPLC), och 0,83 $\mu\text{kat/l}$ för γ -GT. Det totala antalet personer (n) visas för respektive konsumtionsnivå.

rapporter om att EtG kunnat påvisas i urin, blod och hårstrån från alkoholister [4]. En del laboratorier i Europa har börjat erbjuda EtG i urin som rutinmetod för att påvisa alkoholkonsumtion någon av dagarna före provtagningen. En liknande metabolit av etanol är etylsulfat (EtS) [5].

För båda dessa metaboliter gäller att specificiteten är hög (teoretiskt sett 100 procent), att engångsintag av alkohol ger utslag, och att de eliminerar snabbt, varför de kan påvisas endast en eller ett par dagar efter alkoholintag. 5-HTOL (5-hydroxytryptofol) och etylestrar av fettsyror (FAEE) är andra etanolmetaboliter som kan mätas i urin eller blod och som båda avspeglar alkoholintag under det senaste dygnet [6]. Bestämning av alkoholmarkörer, till exempel EtG och FAEE i hår, kan påvisa alkoholintag under flera månader, ibland upp till ett år efter senaste intag [4, 7].

En helt ny och tidigare okänd molekyl inom djurriket upptäcktes 1983 av Alling och medarbetare [8] i organ från råttor som exponerats för etanol. Molekylen fanns inte hos kontrolldjuren, och molekylen hade egenskaper som skilde den från alla andra hittills kända fosfolipider. Efter ytterligare något års detektivarbete kunde det fastställas att den abnormala fosfolipiden utgjordes av fosfatidyletanol (PEth) [9].

PEth. PEth är en abnormal fosfolipid som bildas endast i närvaro av etanol. Bildningen av PEth katalyseras av fosfolipas D (PLD), ett membranassocierat enzym som i närvaro av vatten spjälkar fosfatidylkolin till fosfatidsyra och kolin. I denna reaktion kan etanol ersätta vatten med bildning av fosfatidyletanol i stället för fosfatidsyra [10] (Figur 1). Efter etanolexponering kan PEth påvisas i olika organ hos både människa och råttor med högst koncentration i gastrointestinalkanalen, njure, lunga och mjälte, men också i CNS [11, 12].

I motsats till hos råttor kan PEth hos människa påvisas även i blod. Vid inkubation av humant blod *in vitro* med etanol bildas PEth, till skillnad mot i blod från flera olika undersökta djurslag inklusive råttor [13], vilket antyder att människan kan vara speciell när det gäller att bilda och ansamlas PEth i sitt blod.

I blod hos människa kan PEth påvisas i leukocyter och erythrocyter, men på grund av att erythrocytantalet överstiger leukocytantalet med en faktor på cirka 1 000 är nästan allt PEth i blod associerat med erythrocytfraktionen [14]. I likhet med andra fosfolipider är PEth troligen lokaliserat framför allt till membranfraktionen i cellerna.

»Efter ytterligare något års detektivarbete kunde det fastställas att den abnormala fosfolipiden utgjordes av fosfatidyletanol (PEth).«

PEth i blod. Att PEth kan påvisas i blod hos människa gjorde att steget inte var långt till att undersöka dess potential som biokemisk alkoholmarkör. För detta ändamål behövdes, utöver tillgång till en användbar mätmetod, även uppgifter om bland annat omsättningen av PEth, det vill säga bildning och försvinnande från blodbanan *in vivo*. Det visade sig att det krävdes mer än en veckas regelbundet intag av mer än moderata mängder alkohol för att PEth i blod skulle bli påvisbart och att en engångsdos av etanol (50 g) inte gav mätbara PEth-nivåer [15].

I en studie som omfattade 144 aktivt drickande patienter (123 män, 21 kvinnor) från öppen- och slutenvård var PEth positiv hos alla patienter utom en. Övriga studerade alkoholmarkörer, bland annat CDT, disialo (HPLC) och γ -GT, var positiva i betydligt lägre omfattning [16].

När sensitiviteten relaterades till rapporterad alkoholkonsumtion under de senaste två veckorna före provtagningen sågs också att det krävdes lägre alkoholkonsumtion för att bli positiv för PEth än för de övriga alkoholmarkörerna (Figur 2). Beslutsgränser för PEth, CDT respektive γ -GT var i denna studie 0,22 $\mu\text{mol/l}$, 1,7 procent och 0,83 $\mu\text{kat/l}$. Endast en respektive två patienter hade PEth-värden <0,22 och <0,70 $\mu\text{mol/l}$.

Olika studier har rapporterat en sensitivitet för PEth som alkoholmarkör som varierat mellan 94 och 100 procent beroende på studiegrupp och beslutsgräns [4, 7, 14, 16, 19], och det finns ett klart samband mellan rapporterad alkoholkonsumtion och halten av PEth i blod [15].

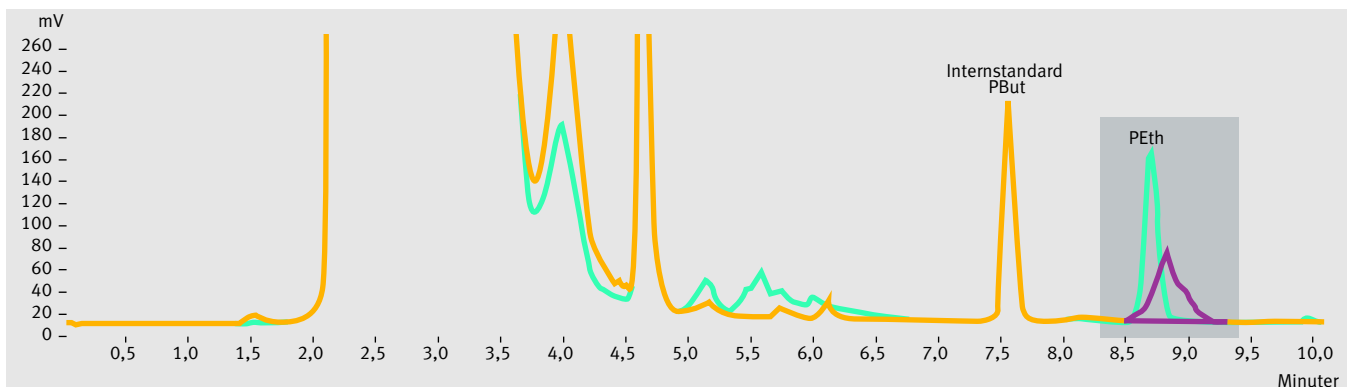
En av dessa studier [19] omfattade 35 rättspsykiatriska patienter som inte intagit alkohol under minst 4 veckor före provtagningen och 56 alkoholberoende patienter med ett självrapporterat intag på 280–5 320 g alkohol under de senaste 7 dagarna före intagning för avgiftning på sjukhus. ROC-analys i denna studie visade 94,5 procents sensitivitet och 100 procents specificitet vid en beslutsgräns för PEth på 0,36 $\mu\text{mol/l}$, vilket var det lägsta uppmätbara värdet för PEth. Motsvarande värden för γ -GT, MCV och CDT var betydligt lägre.

I studier av olika patientgrupper inkluderande såväl aktiva alkoholister som nyktra personer med tidigare alkoholmissbruk har hittills inte något falskt positivt resultat påvisats [4, 7, 19]. Halveringstiden för PEth i blod är cirka 4 dagar, vilket innebär att PEth i regel kan påvisas 2–4 veckor efter avslutat alkoholintag beroende på utgångsvärde [14, 17].

Provtagning. PEth kan bildas *in vitro* efter provtagningen om blodet innehåller etanol. Bildningen är proportionell mot tiden och alkoholhalten i blodet [20]. PEth bildas vid förvaring av blod både i rumstemperatur, i kyl (+4°C) och i frys (-20°C). Bildningen är dock försumbar vid förvaring upp till 24 timmar i rumstemperatur, och upp till 3 veckor i kyl [12, 21]. När etanol saknas i blodet är halten av PEth i helblod stabil i flera veckor även i rumstemperatur.

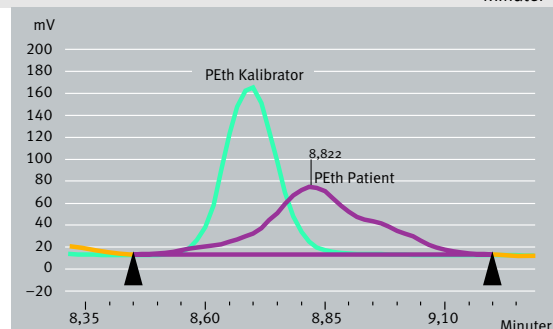
För PEth gäller därför följande provtagnings- och provhantlingsanvisning:

- Venös provtagning i ett 5 ml EDTA-rör eller 5 ml Na-heparinrör utan gel. Provet ska inte centrifugeras.
- Provet är hållbart vid rumstemperatur i 24 timmar och i kyl upp till 3 veckor.
- Vid längre förvaring fryses blodet i plaströr (polypropylen) och förvaras vid -70 °C. Provet ska inte frysas vid -20 °C.
- Minsta provmängd är 1 ml helblod.



Figur 3. Kromatogram från HPLC-analys av en PEth-kalibrator av ett helblodsextrakt (6,0 $\mu\text{mol/l}$) samt av ett patientprov innehållande PEth (4,9 $\mu\text{mol/l}$). Som internstandard används fosfatidylbutanol (PBut). Internstandarden eluerar vid 7,55 min. PEth-kalibratortopp eluerar vid 8,69 min. Formen på patientprovets topp är betingad av aktuell fettsyrsammansättning.

»Det främsta användningsområdet för PEth är att upptäcka och följa patienter med ett alkoholberoende och/eller missbruk.«



Mätmetod för PEth. Helblod tillsammans med internstandard extraheras med 2-propanol och hexan, varefter PEth i extraktet kvantifieras på en HPLC-utrustning försedd med en ljusspridningsdetektor. Denna mätmetod bestämmer summan av alla PEth-former, varav det finns ett stort antal beroende på variationer i fettsyrsammansättningen.

Detta är troligen en fördel eftersom fettsyramönstret i PEth erfarenhetsmässigt kan visa betydande interindividuell variation. Eftersom PEth i blod består av en blandning av olika PEth-former är »PEth-toppen« i ett kromatogram från ett patientprov bredare än i kalibratortopp, som utgörs av en enda PEth-form som innehåller 2 oljesyrarester (Figur 3).

Erfarenheter av PEth som alkoholmarkör

Sedan maj 2006 har vi erbjudit sjukvården möjlighet att beställa B-PEth. Antalet prover har kontinuerligt ökat och är nu på liknande nivå som för CDT. Proverna härrör främst från när-

området (Skåne), men andelen prov från övriga delar av Sverige och från internationella beställare ökar.

I ett material på 623 patientprov visade 67 procent ett mätvärde $<0,7 \mu\text{mol/l}$, vilket för närvarande anses innebära ingen eller endast måttlig alkoholkonsumtion under de senaste 2 veckorna före provtagningen. 19 procent hade $0,7\text{--}2,0 \mu\text{mol/l}$, 12 procent $2,0\text{--}5,5 \mu\text{mol/l}$ och 2,6 procent $>5,5 \mu\text{mol/l}$, halter som motsvarar en alltmer uttalad konsumtion av alkohol.

I många fall har både PEth och CDT beställts, och mätvärdena för de båda alkoholmarkörerna har kunnat jämföras på 969 patientprov (Figur 4). 55 procent av proven var under beslutsgränsen med båda metoderna, det vill säga $<0,7 \mu\text{mol/l}$ för PEth och $<2,0$ procent för CDT, disialo (HPLC). Av patientproverna var 22 procent över beslutsgränsen enbart för PEth medan 2 procent av patienterna hade CDT, disialo (HPLC), $>2,0$ procent i kombination med PEth $<0,7 \mu\text{mol/l}$.

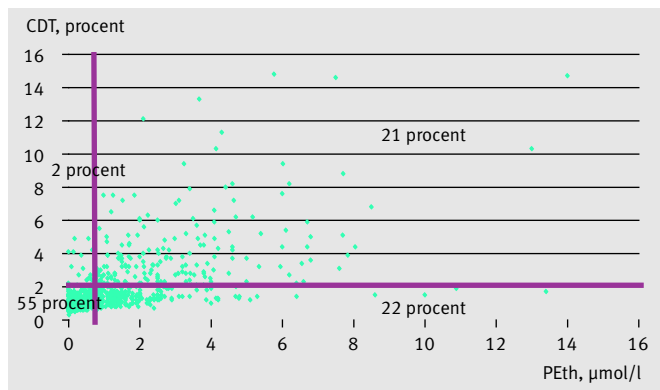
Sammantaget är detta i överensstämmelse med resultat från publicerade studier, som visat att PEth är en betydligt känsligare alkoholmarkör än CDT.

Orsakerna till kombinationen förhöjt CDT men normalt PEth kan vara flera. En viktig orsak är valet av beslutsgränser, vilka för närvarande är satta för att minska risken för att även normalalkonsumenter ska fångas upp.

En ytterligare anledning till enstaka fall av förhållandevis låga PEth-värden i förhållande till CDT kan vara skillnader i halveringstider i blodbanan, där CDT i genomsnitt har en halveringstid på cirka 10 dagar jämfört med en halveringstid för PEth på cirka 4 dagar.

En annan och sannolikt mer betydelsefull orsak är skillnaderna i specificitet (100 procent för PEth jämfört med cirka 90 procent för CDT). Den senare anledningen illustreras av ett körkortstävande där en man förvägrades nytt körkort på grund av upprepade förhöjda CDT-värden (2,4–2,8 procent).

Mannen förnekade alkoholkonsumtion. Övriga alkoholmarkörer ($\gamma\text{-GT}$ och MCV) var helt normala. Detta är ett ärende som det är svårt att ta ställning till. Här kunde emellertid problemet till slut få en lösning, eftersom upprepade senare prov visade CDT-värden på konstant förhöjd nivå trots att PEth



Figur 4. Relation mellan PEth och CDT, disialo (HPLC), för alla patientprov analyserade i klinisk rutindrift under perioden maj 2006 till och med oktober 2007 där båda alkoholmarkörerna var beställda med samma provtagningsdatum ($n=969$). Linjerna i grafen representerar beslutsgränserna för respektive analys (PEth $0,7 \mu\text{mol/l}$; CDT, disialo [HPLC] 2,0 procent).

överhuvudtaget inte kunde detekteras vid något tillfälle. Mannen beviljades sedermera nytt körkort.

Fallbeskrivningar

Fall 1. Man i 50-årsåldern med övervikt, hypertoni och med ett känt alkoholmissbruk som pågått i minst 10 år. Den angivna alkoholkonsumtionen är 1 flaska vodka per helg samt 0–4 burkar starköl dagligen. PEth är förhöjt vid samtliga provtagningstillfällena men CDT, disialo (HPLC), ligger konstant på »normalk» nivå (1,2–1,5 procent, Figur 5).

Fall 2. Man i 50-årsåldern med känt långvarigt alkoholmissbruk. Denna patient har förhöjt PEth vid 7 av 8 provtagningstillfällena men förhöjt CDT, disialo (HPLC), bara vid 1 av 4 provtagningstillfällena (Figur 6). De lägre värdena för PEth och CDT i månads-skiftet maj–juni sammanfaller tidsmässigt med poliklinisk behandling på beroendeenhet.

Fall 3. Kvinna i 50-årsåldern. Mångårigt alkoholmissbruk. Ett vårdtillfälle 2008 efter sannolikt epileptiskt anfall. Denna patient visar förhöjning av PEth vid 13 av 14 provtagningstillfällena och förhöjning av CDT, disialo (HPLC) vid 19 av 19 tillfällena med likartat tidsmönster för båda markörerna (Figur 7).

Fall 4. Man i 50-års åldern med långvarigt alkoholmissbruk. Vårdad april 2008 under diagnos alkoholhepatit. Patienten hade i samband med inläggningen på vårdavdelning mycket kraftig förhöjning av alkoholmarkörer och leverprover (PEth = 32 µmol/l, CDT, disialo = 11 procent, γ-GT = 84 µkat/l, ASAT = 12 µkat/l, ALAT = 3,4 µkat/l och bilirubin = 113 µmol/l). Värdet för PEth är det högsta som någonsin registrerats.

Användningsområden för PEth

Det främsta användningsområdet för PEth är att upptäcka och följa patienter med ett alkoholberoende och/eller missbruk. Alkoholmarkörer, däribland PEth, kan vara ett hjälpmedel även vid utredning och uppföljning av ett flertal sjukdomstillstånd som erfarenhetsmässigt kan vara alkoholrelaterade eller sjukdomstillstånd där alkohol kan ha en förvärrande effekt.

För vissa yrkeskategorier är det särskilt viktigt att försäkra sig om att alkohol- eller annat drogmissbruk inte förekommer. Andra användningsområden är inom företagshälsovård, i körkortsärenden och i rättsmedicinska sammanhang [22].

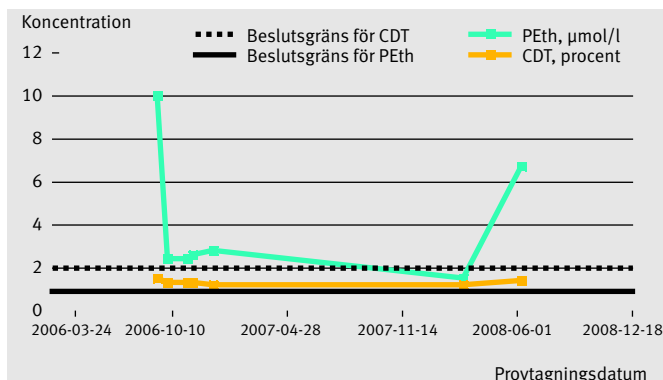
Ytterligare anledning till användning kan vara oklar ökning av ASAT, ALAT eller γ-GT.

Blod- och urinprov, användbarhet och begränsningar

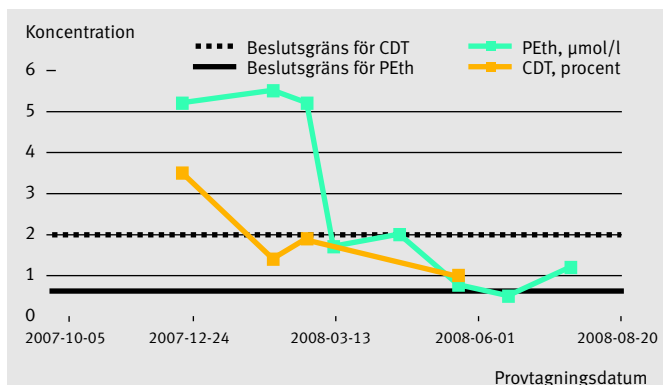
Ett test i form av ett blod- eller urinprov ska vara tillfredsställande kvalitetssäkrat. Det ska ha dokumenterad tillförlitlighet och användbarhet. Tillförlitligheten består i mätnoggrannhet (reliabilitet) och relevans (validitet). Användbarheten omfattar bland annat kostnadseffektivitet, tillgänglighet, krav på provtagning och tolkning av analysresultat. För tolkning av ett analysresultat krävs kunskap om det prediktiva värdet av ett testutfall. Detta är utöver testets sensitivitet och specificitet beroende av prevalensen av sjukdomen/tillståndet i den undersökta populationen.

För sällsynta sjukdomar som flertalet ärftliga metabola

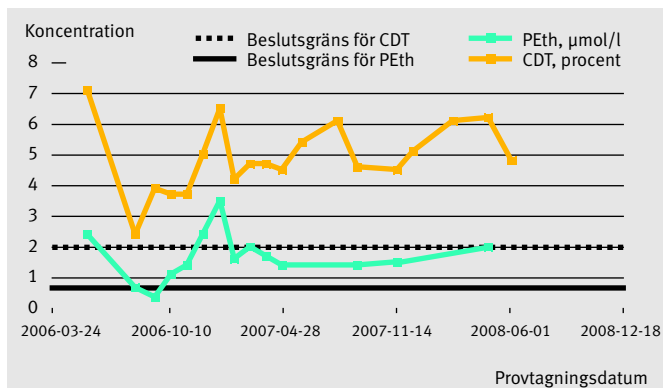
»Teoretiskt är specificiteten för PEth som alkoholmarkör 100 procent, vilket också stöds av resultaten från samtliga publicerade studier.«



Figur 5. Fall 1: Koncentration av PEth och CDT, disialo (HPLC), vid olika provtagningstillfällena.



Figur 6. Fall 2: Koncentration av PEth och CDT, disialo (HPLC), vid olika provtagningstillfällena.



Figur 7. Fall 3: Koncentration av PEth och CDT, disialo (HPLC), vid olika provtagningstillfällena.

sjukdomar är detta ett stort problem och ställer enorma krav på metoden, som måste ha extremt hög specificitet. Trots den tämligen höga prevalensen (5–15 procent) av alkoholmissbruk i den svenska befolkningen är specificiteten för gängse alkoholmarkörer (CDT, γ-GT och MCV) ändå ett inte oväsentligt problem, vilket illustreras av det beskrivna körkortsärendet.

Markörernas låga sensitivitet är emellertid ett ännu större bekymmer. Teoretiskt är specificiteten för PEth som alkoholmarkör 100 procent, vilket också stöds av resultaten från samtliga publicerade studier. Rapporterad sensitivitet är 94–100 procent beroende på beslutsgräns och studiepopulation. Det prediktiva värdet av såväl ett positivt som ett negativt testutfall för PEth är därför synnerligen högt oavsett vilken population som undersöks.

Konklusion

Fosfatidyletanol (PEth) är en abnorm fosfolipid som bildas i cellmembran endast i närvaro av etanol. Specificiteten för PEth som alkoholmarkör är därför teoretiskt 100 procent. Falskt positiva utfall har inte påvisats.

Vid regelbundet alkoholintag ansamlas PEth i röda blodkroppar; ju kraftigare intag/missbruk, desto högre koncentration. Ett enstaka berusningstillfälle ger inga mätbara halter

av PEth, och troligen behövs mer än en veckas regelbunden hög alkoholkonsumtion för att PEth ska bli mätbart. PEth är en känsligare markör för alkoholmissbruk än CDT, γ -GT och MCV, eller dessa i kombination. Halveringstiden för PEth i blod är cirka 4 dagar, och PEth kan påvisas upp till 4 veckor efter avslutad period av alkoholmissbruk.

■ *Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Inga uppgivna.*

REFERENSER

- Alcohol policy in the WHO European region: current status and the way forward. Fact sheet EURO/10/05. <http://www.euro.who.int/document/mediacentre/fs1005e.pdf>
- Alkohol, droger och trafik. Vägverket 2008-06. http://publikationswebbutik.vv.se/upload/1745/88294_alkohol_droger_trafik_6.pdf
- Nationella resultat från folkhälsoenkäten 2007. Hälsa på lika villkor? Statens folkhälsoinstitut. http://www.fhi.se/templates/Page_12670.aspx
- Wurst FM, Skipper GE, Weinmann W. Ethyl glucuronide – the direct ethanol metabolite on the threshold from science to routine use. *Addiction*. 2003;98(suppl 2):51-61.
- Helander A, Beck O. Ethyl sulphate: a metabolite of ethanol in humans and a potential biomarker of acute alcohol intake. *J Anal Toxicol*. 2005;29(5):270-4.
- Wurst FM, Alling C, Aradottir S, Pragst F, Allen JP, Weinmann W, et al. Emerging biomarkers: New directions and clinical applications. *Alcohol Clin Exp Res*. 2005;29(3):465-73.
- Wurst FM, Alexson S, Wollersdorf M, Bechtel G, Forster S, Alling C, et al. Concentration of fatty acid ethyl esters in hair of alcoholics: comparison to other biological state markers and self reported ethanol intake. *Alcohol Alcohol*. 2004;39:22-8.
- Alling C, Gustavsson L, Ånggård E. An abnormal phospholipid in rat organs after ethanol treatment. *FEBS Lett*. 1983;152(1):24-8.
- Alling C, Gustavsson L, Månsson JE, Benthin G, Ånggård E. Phosphatidylethanol formation in rat organs after ethanol treatment. *Biochim Biophys Acta*. 1984;793(1):119-22.
- Aradottir S, Lundqvist C, Alling C. Phosphatidylethanol in rat organs after ethanol exposure. *Alcohol Clin Exp Res*. 2002;26(5):14-8.
- Aradottir 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.
- Varga A, Hansson P, Johnson G, Alling C. Normalization rate and cellular localization of phosphatidylethanol in whole blood from chronic alcoholics. *Clin Chim Acta*. 2000;299:141-50.
- Varga A, Hansson P, Lundqvist C, Alling C. Phosphatidylethanol in blood as a marker of ethanol consumption in healthy volunteers: Comparison with other markers. *Alcohol Clin Exp Res*. 1998;22(8):1832-37.
- Aradottir S, Asanovska G, Gjerss S, Hansson P, Alling C. Phosphatidylethanol (PEth) concentrations in blood are correlated to reported alcohol intake in alcohol-dependent patients. *Alcohol Alcohol*. 2006;41(4):431-7.
- Gunnarsson T, Karlsson A, Hansson P, Johnson G, Alling C, Odham G. Determination of phosphatidylethanol in blood from alcoholic males using high performance liquid chromatography and evaporative light scattering or electrospray mass spectrometric detection. *J Chromatography B*. 1998;705:243-9.
- Wurst FM, Vogel R, Jachau K, Varga A, Alling C, Alt A, et al. Ethyl glucuronide discloses recent covert alcohol use not detected by standard testing in forensic psychiatric inpatients. *Alcohol Clin Exp Res*. 2003;24:471-6.
- Hartmann S, Aradottir S, Graf M, Wiesbach G, Lesch O, Ramskogler K, et al. Phosphatidylethanol as a sensitive and specific biomarker: comparison with gamma-glutamyl transpeptidase, mean corpuscular volume and carbohydrate-deficient transferrin. *Addict Biol*. 2007;12(1):81-4.
- Varga A, Alling C. Formation of phosphatidylethanol in vitro in blood cells from healthy volunteers and chronic alcoholics. *J Lab Clin Med*. 2002;140(2):79-83.
- Aradottir S, Olsson BL. Methodological modifications on quantification of phosphatidylethanol in blood from humans abusing alcohol, using high-performance liquid chromatography and evaporative light scattering detection. *BMC Biochem*. 2005;6:18. <http://www.biomedcentral.com/1471-2091/6/18>
- Hansson P, Varga A, Krantz P, Alling C. Phosphatidylethanol in post-mortem blood as a marker of previous heavy drinking. *Int J Legal Med*. 2001;115(3):158-61.