

# MOŻLIWOŚCI PRAKTYCZNEGO ZASTOSOWANIA NOWYCH WSKAŹNIKÓW BIOCHEMICZNYCH NADUŻYWANIA ALKOHOLU ETYLOWEGO

NEW BIOCHEMICAL MARKERS OF ETHYL ALCOHOL ABUSE –  
NEW POSSIBILITIES IN CLINICAL PRACTICE

Przemysław Paul<sup>1</sup>, Katarzyna Kanclerz<sup>1</sup>, Alicja Kubanek<sup>1</sup>, Joanna Renke<sup>2</sup>, Marcin Renke<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Gdański Uniwersytet Medyczny / Medical University of Gdansk, Gdańsk, Poland  
Klinika Chorób Zawodowych, Metabolicznych i Wewnętrznych / Department of Occupational, Metabolic and Internal Diseases

<sup>2</sup> Uniwersytet Gdański / University of Gdansk, Gdańsk, Poland  
Katedra Biochemii Ogólnej i Medycznej / Department of General and Medical Biochemistry

## STRESZCZENIE

Alkohol jest w krajach rozwiniętych jednym z głównych czynników behawioralnych utraty zdrowia i życia. Jego nadużywanie ma poważne skutki społeczne i ekonomiczne: przyczynia się do większej liczby wypadków w pracy, kolizji drogowych oraz nieobecności w zakładach pracy. Rozpoznawanie i leczenie alkoholizmu jest bardzo trudne, dlatego wykorzystanie obiektywnych wskaźników biochemicznych nadużywania alkoholu etylowego może przyczynić się do wcześniejszego rozpoznawania, skuteczniejszego leczenia i wiarygodnego monitorowania okresu abstynencji. Celem pracy jest przedstawienie dostępnych w Polsce czułych i swoistych wskaźników szkodliwego spożywania alkoholu ze szczególnym uwzględnieniem możliwości ich praktycznego wykorzystania. Takie testy mogą znaleźć zastosowanie m.in. w programach odzyskiwania prawa jazdy przez kierowców zatrzymanych z powodu jazdy pod wpływem alkoholu, wczesnego wykrywania osób nadużywających alkoholu wśród pracowników podczas rutynowych badań w zakładach pracy, do monitorowania abstynencji w trakcie leczenia odwykowego, przed planowanymi zabiegami przeszczepiania narządów, do wykrywania szkodliwego spożywania alkoholu wśród kobiet ciężarnych i w sekcjach sądowo-lekarskich. Niezbędna jest standaryzacja metod oznaczania wskaźników w materiale biologicznym, a istotnym problemem we właściwej interpretacji wyników mogą być choroby współistniejące. Mimo tych ograniczeń obiektywne wskaźniki biochemiczne nadużywania alkoholu etylowego mogą być pomocne w opiece nad pacjentami. Szczególną rolę mogą pełnić w diagnostyce w medycynie pracy, przyczyniając się do wzrostu bezpieczeństwa na drogach publicznych oraz bezpieczeństwa pracowników w zakładach pracy. Med. Pr. 2021;72(2):173–184

**Słowa kluczowe:** alkohol, wskaźniki, medycyna pracy, ubogowęglowodanowe izoformy transferyny, glukuronian etylu, fosfatydyletanol

## ABSTRACT

Alcohol ranks as one of the leading behavioral threats to health and life in developed countries. Alcohol abuse triggers serious social and economic effects: it contributes to higher prevalence of work-related and road accidents, as well as absence from work. The diagnosis and treatment of alcoholism still remain very difficult. Hence, the use of objective biochemical markers of alcohol abuse may contribute to earlier detection, more effective therapy and reliable teetotalism control. The aim of this study is to present the sensitive and specific biomarkers of alcohol abuse available in Poland, with particular emphasis on the practical use possibilities. Such tests may be widely used, e.g., in driving license regranting cases involving drivers whose licenses were suspended for driving when intoxicated, for the early detection of persons abusing alcohol in employment-related health controls, for abstinence monitoring during withdrawal treatment, for detecting alcohol consumption in transplant settings, for assessing the prevalence of alcohol drinking in pregnancy, as well as in autopsical examinations. The standardization of biomarkers measurement methods is essential. Moreover, concomitant disorders may pose a significant problem in the proper outcome analysis. Despite these limitations, objective biochemical markers of ethyl alcohol abuse may become helpful tools in medical care. They can play a particular role in occupational medicine diagnostics, contributing to the higher level of safety on public roads and to worker safety. Med Pr. 2021;72(2):173–84

**Key words:** alcohol, biomarkers, occupational medicine, carbohydrate-deficient transferrin isoforms, ethyl glucuronide, phosphatidyletanol

Autor do korespondencji / Corresponding author: Przemysław Paul, Gdański Uniwersytet Medyczny, Klinika Chorób Zawodowych, Metabolicznych i Wewnętrznych, ul. Powstania Styczniowego 9b, 81-519 Gdynia, e-mail: ppaul@gumed.edu.pl  
Nadesłano: 30 maja 2020, zatwierdzono: 28 września 2020

## WSTĘP

Alkohol jest substancją psychoaktywną akceptowaną społecznie w wielu regionach świata. Rocznie przyczynia się do 3 milionów zgonów na wszystkich kontynentach [1]. Zgodnie z danymi Głównego Urzędu Statystycznego w Polsce problem spożywania znacznych ilości alkoholu (tj. regularne przyjmowanie >60 g alkoholu etylowego) dotyczy ok. 8% dorosłych [2]. Nadmierne spożywanie alkoholu ma konsekwencje nie tylko zdrowotne, lecz także społeczne i ekonomiczne. Szacunkowe koszty prezenteizmu [3], absenteizmu oraz spadku produktywności firm z różnych sektorów gospodarki spowodowanych problemami alkoholowymi pracowników są bardzo wysokie [4,5]. Dlatego działania na rzecz walki z alkoholizmem powinny być traktowane priorytetowo przez lekarzy pierwszego kontaktu i lekarzy medycyny pracy.

Według zaleceń Światowej Organizacji Zdrowia jedną z metod ograniczenia niekorzystnych skutków nadużywania alkoholu jest doskonalenie i rozszerzanie metod diagnostycznych, które pozwalają wykryć osoby szkodliwie spożywające alkohol oraz monitorować okres abstynencji u osób leczących się [1]. W codziennej praktyce lekarskiej można stosować specjalne kwestionariusze, takie jak CAGE (akronim pochodzi od 4 pytań, które zadaje się podczas testu) [6], AUDIT (*Alcohol Use Disorders Identification Test*) [7] czy B-MAST (*Brief Michigan Alcoholism Screening Test*) [8]. Należy podkreślić, że uzyskane dzięki nim informacje nie są w pełni obiektywne, więc nie powinny służyć do celów medyczno-prawnych [9]. W wielu przypadkach pacjenci (np. kobiety w ciąży, osoby które utraciły prawo jazdy z powodu prowadzenia pojazdów pod wpływem alkoholu) mogą celowo zatajać informacje. Zdarza się, że przeprowadzenie testu nie jest możliwe np. ze względu na stan kliniczny chorego lub jego zdolności intelektualne [10].

Tradycyjnie stosowane wskaźniki biochemiczne nadużywania alkoholu etylowego są powszechnie dostępne, a ich cena nie jest wysoka (tabela 1). Jednak mają one ograniczoną czułość i swoistość. Poza tym ich stężenia w badanym materiale biologicznym zależą od wielu czynników, takich jak płeć, wiek czy choroby współistniejące (np. otyłość, cukrzyca, choroby wątroby, trzustki, pęcherzyka żółciowego, infekcje, schorzenia hematologiczne) [11].

Ponieważ alkoholizm stanowi istotny problem dla systemu ochrony zdrowia, relacji międzyludzkich oraz gospodarki państwa, prowadzone są badania w celu opracowania nowych narzędzi diagnostycznych, dzięki

którym w obiektywny sposób będzie można wykryć osoby szkodliwie spożywające alkohol lub mające predyspozycje do uzależnienia się. Jeśli będą one dostępne, lekarze podstawowej opieki zdrowotnej, medycyny pracy oraz innych specjalności będą mogli zidentyfikować takich pacjentów, a następnie wdrożyć odpowiednie postępowanie. Inną ważną zaletą takich narzędzi jest możliwość dokładniejszego monitorowania okresu abstynencji, która jest wymagana w wielu sytuacjach medycznych (np. pacjenci przygotowani do transplantacji wątroby [12]) oraz prawnych (np. zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Zdrowia z dnia 29 sierpnia 2019 r. w sprawie badań lekarskich osób ubiegających się o uprawnienia do kierowania pojazdami i kierowców [13] w przypadku stwierdzenia w przeszłości uzależnienia od alkoholu można orzec brak przeciwwskazań zdrowotnych do kierowania pojazdami, jeżeli osoba badana udokumentuje co najmniej roczny okres abstynencji, a także przedstawi opinię lekarza lub terapeuty prowadzącego leczenie odwykowe potwierdzającą leczenie i utrzymywanie abstynencji oraz przeprowadza regularne kontrolne badania lekarskie). Wykorzystywanie narzędzi diagnostycznych może zmniejszyć liczbę osób uzależnionych, poprawić rokowanie oraz zmniejszyć koszty spowodowane alkoholizmem.

Opisano wiele tzw. nowych wskaźników nadużywania alkoholu etylowego, które mają wyższą czułość i swoistość niż tradycyjne [14,15] (tabele 1 i 2). Celem niniejszej publikacji jest przedstawienie nowych wskaźników biochemicznych ze szczególnym uwzględnieniem możliwości ich praktycznego zastosowania. Przybliżenie aktualnej wiedzy na ten temat może pomóc lekarzom wielu specjalności, w tym lekarzom medycyny pracy, we współpracy z pacjentami szkodliwie spożywającymi alkohol etylowy.

## METODY PRZEGLĄDU

Autorzy publikacji, korzystając z bazy danych MEDLINE oraz obowiązujących w Polsce aktów prawnych, dokonali krytycznego przeglądu literatury w języku angielskim i polskim opublikowanej do maja 2020 r.

Użyto następujących słów kluczowych: „alkohol” (*alcohol*), biomarkery (*biomarkers*), „medycyna pracy” (*occupational medicine*), „ocena zdolności do pracy” (*evaluation of fitness for work*), „ocena zdolności do kierowania pojazdami” (*fitness to drive*), „ubogowęglowodanowe izoformy transferyny” (*carbohydrate-deficient transferrin*), „glukuronian etylu” (*ethyl glucuronide*), „fosfatydyloetanol” (*phosphatidylethanol*).

**Tabela 1.** Podział wybranych biomarkerów nadużywania alkoholu etylowego [15–17,22,25]  
**Table 1.** Division of the selected biomarkers of ethyl alcohol abuse [15–17,22,25]

Wskaźnik Biomarker	Skrót Abbreviation	Materiał do oznaczenia w diagnostyce nadużywania alkoholu Biological sample type in the alcohol abuse diagnostics
Tradycyjny / Traditional		
alkohol etylowy / ethyl alcohol	EtOH	krew, mocz, powietrze wydychane, ślina, pot / blood, urine, breath, saliva, sweat
γ-glutamyl-transferaza / γ-glutamyl-transferase	GGT	krew / blood
aminotransferaza asparaginianowa / aspartate transaminase	AST	krew / blood
aminotransferaza alaninowa / alanine transaminase	ALT	krew / blood
średnia objętość krwinki czerwonej / mean corpuscular volume	MCV	krew / blood
lipoproteina wysokiej gęstości / high-density lipoprotein	HDL	krew / blood
kwaz moczowy / uric acid	UA	krew / blood
immunoglobulina A / immunoglobulin A	IgA	krew, ślina / blood, saliva
ubogowęglowodanowe izoformy transferyny* / carbohydrate-deficient transferrin isoforms*	CDT	krew, płyn mózgowo-rdzeniowy / blood, cerebrospinal fluid
Nowy / New		
ubogowęglowodanowe izoformy transferyny* / carbohydrate-deficient transferrin isoforms*	CDT	krew, płyn mózgowo-rdzeniowy / blood, cerebrospinal fluid
glukuronian etylu / ethyl glucuronide	EtG	krew, mocz, włosy, paznokcie, ciało szkliste, smółka, płyn mózgowo-rdzeniowy / blood, urine, hair, nails, vitreous humor, meconium, cerebrospinal fluid
fosfatydyloetanol / phosphatidylethanol	PEth	krew, sucha kropla krwi / blood, dry blood spots
siarczan etylu / ethyl sulfate	EtS	krew, mocz, włosy / blood, urine, hair
mitochondrialna aminotransferaza asparaginianowa / mitochondrial aspartate transaminase	mAST	krew / blood
5-hydrokryptofol / 5-hydroxytryptophol	5-HTOL	krew, mocz / blood, urine
β-heksozaminidaza / β-hexosaminidase	β-HEX	krew, mocz, ślina / blood, urine, saliva
kwaz sialowy / sialic acid	SA	krew, ślina / blood, saliva
wskaźnik kwasu sialowego apolipoproteiny J / plasma sialic acid index of apolipoprotein J	SIJ	krew / blood
aldehid octowy związany z białkami krwi / whole-blood-associated acetaldehyde	WBAA	krew / blood
addukty aldehidu octowego związanego z hemoglobina / hemoglobin-associated acetaldehyde adducts	HAA	krew / blood
estry etylowe kwasów tłuszczowych / fatty acid ethyl esters	FAEEs	krew, włosy, smółka noworodków / blood, hair, meconium

\* Ubogowęglowodanowe izoformy transferyny są zaliczane zarówno do tradycyjnych, jak i do nowych wskaźników nadużywania alkoholu / Carbohydrate-deficient transferrin isoforms are ranked both as traditional and new biomarkers of alcohol abuse.

## WYNIKI PRZEGLĄDU

Autorzy artykułu postanowili skoncentrować się na wskaźnikach, które są obecnie najpowszechniej dostępne w laboratoriach w Polsce, takich jak ubogowęglowodanowe izoformy transferyny, glukuronian etylu i fosfatydyloetanol.

W tabeli 2 przedstawiono podsumowanie najważniejszych cech testów. Wykładniki biochemiczne mogą

pomóc w wykrywaniu różnych typów osób pijących alkohol etylowy, których charakterystykę przedstawiono w tabeli 3.

### Ubogowęglowodanowe izoformy transferyny

Oznaczenie w surowicy ubogowęglowodanowych izoform transferyny (*carbohydrate-deficient transferrin* – CDT), znanych również jako „transferyna desialowana”, jest testem zaliczanym zarówno do tradycyjnych,

**Tabela 2.** Charakterystyka ubogowęglowodanowych izoform transferyny (CDT), glukuronianu etylu (EtG) i fosfatydyletanolu (PEth) [14–16,35,56]  
**Table 2.** Summary characteristics of carbohydrate-deficient transferrin (CDT) isoforms, ethyl glucuronide (EtG), and phosphatidylethanol (PEth) [14–16,35,56]

Wskaźnik Biomarker	Czułość Sensitivity [%]	Swiistość Specificity [%]	Dawka oraz okres nadużywania alkoholu potrzebne do wykrycia podwyższonych stężeń wskaźników w materiale biologicznym Quantity and time of alcohol abuse needed to detect elevated biomarker concentrations in biological samples	Okno detekcji (po całkowitym zaprzestaniu spożywania alkoholu) Detection window (after cessation of drinking alcohol)	Przykłady źródeł wyników fałszywie dodatnich Examples of possible sources of false positives
CDT	55–90	92–97	– 60 g etanolu dziennie przez 7–10 dni / 60 g of ethanol daily for at least 7–10 days	– 2–3 tygodnie / weeks	– polimorfizm genetyczny transferyny / genetic polymorphism of transferrin – choroby wątroby / liver diseases – niedobór/nadmiar żelaza / iron deficiency/excess
EtG	70–90	80–95	– jednorazowe spożycie 7 g etanolu (oznaczany w moczu) / single intake of 7 g of ethanol (assayed in urine) – jednorazowe spożycie 30–40 g etanolu (oznaczany w moczu) / single intake of 30–40 g of ethanol (assayed in urine) – jednorazowe spożycie 60–70 g etanolu (oznaczany w moczu) / single intake of 60–70 g of ethanol (assayed in urine) – >60 g etanolu dziennie przez kilka miesięcy (oznaczany we włosach) / >60 g of ethanol daily for few months (assayed in hair)	– do 6 godz. (oznaczany w moczu) / up to 6 h (assayed in urine) – do 48 godz. (oznaczany w moczu) / up to 48 h (assayed in urine) – 3–5 dni (oznaczany w moczu) / 3–5 days (assayed in urine) – 3–6 miesięcy / months	– ekspozycja na środki codziennego użytku zawierające alkohol / incidental exposure to alcohol in daily use products – działanie silnych środków chemicznych na włosy (np. farbowanie, tlenienie) / strong chemical agents affecting hair (e.g., coloring, bleaching)
PEth	94,5–100	~100	– 40–50 g etanolu dziennie przez co najmniej 7–10 dni / 40–50 g of ethanol daily for at least 7–10 days	– 2–3 tygodnie / weeks	–

jak i nowych wskaźników nadużywania alkoholu etylowego [16,17].

Transferyna to glikoproteina transportująca żelazo, której izoformy różnią się od siebie m.in. liczbą przyłączonych reszt kwasu sialowego. W warunkach fizjologicznych dominuje tetrasialotransferyna, a odsetek tworzenia się tzw. form desialowanych (asialo-, monoasialo-, disialotransferyny) jest niski. Nadmierne spożycie alkoholu przyczynia się do zwiększenia odsetka izoform ubogowęglowodanowych (desialowanych) [18]. Należy zaznaczyć, że na czułość CDT duży wpływ ma stężenie żelaza oraz stężenie całkowitej transferyny. Nadmiar żelaza obniża czułość badania u alkoholiczków, natomiast jego niedobór redukuje czułość u osób niezależnych [19]. Dlatego, aby zwiększyć czułość oznaczeń, można przedstawiać wynik jako odsetek transferyny desialowanej w odniesieniu do transferyny całkowitej (%CDT) [18].

Doniesienia na temat wpływu różnych chorób współistniejących i nieprawidłowości na %CDT są sprzeczne. Bergstroem i Helander [20] wykazali, że schyłkowa niewydolność wątroby, cukrzyca typu 2, mukowiscydoza, podwyższone stężenie CRP i przyjmowanie leków przeciwpadaczkowych nie zmieniają istotnie odsetka transferyny desialowanej badanej metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej. Z drugiej strony Stewart i wsp. [21] wykazali, że choroby wątroby mogą być przyczyną uzyskania znacznego odsetka wyników fałszywie dodatnich. Pomimo że CDT została opisana jako wskaźnik nadużywania alkoholu etylowego wiele lat temu, cały czas pojawiają się wątpliwości dotyczące metod jej oznaczania oraz prowadzone są badania służące międzynarodowej standaryzacji procedur pomiaru [9].

Transferyna desialowana jest uważana za wskaźnik pozwalający rozpoznać osoby pijące znaczne ilości alkoholu oraz pijące w sposób szkodliwy. Przyjmowanie ok. 60 g alkoholu przez co najmniej 7–10 dni podwyższa jej stężenie w surowicy [22]. Po 2–3 tygodniach całkowitej abstynencji wartości powracają do norm fizjologicznych [23]. Warto zaznaczyć, że oznaczenie CDT jest proponowane przez amerykańską Agencję Żywności i Leków (Food and Drug Administration – FDA) jako test diagnostyczny do identyfikacji osób pijących znaczne ilości alkoholu (tzw. *heavy drinkers*) [24].

Waszkiewicz i wsp. [16] podają, że oznaczenie CDT jest badaniem czulszym niż pomiar tradycyjnego wskaźnika nadużywania alkoholu  $\gamma$ -glutamylotransferazy (GGT) w monitorowaniu abstynencji (wykrywanie nawrotów picia). Wynika to z faktu, że po okresie

**Tabela 3.** Typy osób pijących alkohol [22,57]**Table 3.** Types of alcohol drinkers [22,57]

Typ osób pijących alkohol Type of alcohol drinkers	Charakterystyka Characteristics
Pijący umiarkowanie / Social drinkers	spożywają 10–20 g etanolu/dobę – niewielkie ryzyko szkód zdrowotnych i społecznych / people who drink 10–20 g of ethanol daily – low risk of future negative health and social consequences
Pijący ryzykownie / Risky drinkers	kobiety spożywające >10–20 g etanolu/dobę, mężczyźni spożywający >30–40 g etanolu/dobę – możliwe jest zwiększone ryzyko szkód zdrowotnych / women who drink >10–20 g of ethanol daily, men who drink >30–40 g of ethanol daily – elevated risk of future negative consequences is possible
Upijający się / Binge drinkers	spożywają okazjonalnie >50 g etanolu (np. podczas jednego wieczoru) – duże ryzyko szkód natychmiastowych (np. zatrucia, urazy, przemoc) / people who drink occasionally >50 g of ethanol (e.g., during 1 evening) – high risk of immediate negative consequences (e.g., intoxications, injuries, violence)
Pijący znaczne ilości alkoholu / Heavy drinkers	spożywają regularnie >60 g etanolu/dobę – duże ryzyko przyszłych szkód zdrowotnych i społecznych / people who drink regularly >60 g of ethanol daily – high risk of future negative health and social consequences
Pijący w sposób szkodliwy / Problem drinkers	spożywają regularnie >60–70 g etanolu/dobę – prowadzą do szkód natychmiastowych / people who drink regularly >60–70 g of ethanol daily – this leads to immediate negative consequences
Uzależnieni od alkoholu / Alcoholics	spełnione co najmniej 3 kryteria z następujących w ciągu ostatniego roku / at least 3 of the following criteria were met during the past year: <ul style="list-style-type: none"> <li>– silna potrzeba spożywania alkoholu / persistent desire to drink alcohol,</li> <li>– trudności w kontrolowaniu zachowań związanych z pićm alkoholu / impaired drinking control,</li> <li>– objawy abstynencyjne po zaprzestaniu spożywania alkoholu / withdrawal symptoms after cessation of drinking,</li> <li>– występowanie tolerancji na coraz większe dawki alkoholu / higher doses tolerance,</li> <li>– postępujące zaniedbywanie obowiązków i przyjemności / neglecting responsibilities and other pleasures,</li> <li>– spożywanie alkoholu pomimo wiedzy o jego szkodliwości / alcohol drinking continues despite adverse consequences</li> </ul>

krótkiej abstynencji, nawet niewielka ilość alkoholu może podwyższyć odsetek tworzenia się izoform desialowanych transferyny w surowicy.

Niemelä [25] wskazuje, że CDT może być pomocna w różnicowaniu alkoholowego i niealkoholowego uszkodzenia wątroby. Podkreśla jednak, że aby nastąpił wzrost %CDT w surowicy, konieczne jest regularne spożywanie 50–80 g alkoholu dziennie, dlatego transferyna desialowana nie jest dobrym narzędziem przesiewowym do wykrywania nadużywania alkoholu w populacji ogólnej.

W badaniu prowadzonym w 2001 r. przez Sillanaukee i Olsson [26] poszukiwano połączenia powszechnie stosowanych wskaźników uzależnienia od alkoholu, którego czułość i swoistość w diagnostyce nadużywania alkoholu byłaby wyższa niż wskaźników stosowanych oddzielnie. Warunki te spełniało połączenie GGT-CDT, wyrażone wzorem:

$$\text{GGT-CDT} = 0.8 \times \ln(\text{GGT}) + 1.3 \times \ln(\text{CDT}) \quad (1)$$

Ustalono, że stężenie CDT, którego przekroczenie świadczy o wysokim prawdopodobieństwie spożywania

znacznych ilości alkoholu, to 20 jednostek/l (u/l) u mężczyzn oraz 26 u/l u kobiet [26].

Jednak w badaniu włoskich kierowców Bianchi i wsp. [27] nie potwierdzili takich zależności. Kierujących pojazdami podzielono na 3 grupy: w grupie A byli abstynenci i osoby pijące umiarkowane ilości alkoholu (N = 652: 336 mężczyzn, 316 kobiet), w grupie B – osoby ubiegające się ponownie o prawo jazdy po zakończeniu programu odwykowego (N = 603: 552 mężczyzn i 51 kobiet), a w grupie C – sprawcy wypadków pod wpływem alkoholu (N = 105: 78 mężczyzn, 27 kobiet). U mężczyzn wartości CDT były znacznie wyższe niż u kobiet. Wiek nie był skorelowany z wartością CDT ani w populacji ogólnej, ani oddzielnie dla kobiet i mężczyzn. U kierowców z grup B i C wartości CDT były znacznie wyższe (o 3% w grupie B i 27% w grupie C) w porównaniu z wartościami w grupie A. Stężenie GGT w surowicy zmierzono u wszystkich badanych, a następnie użyto jej do obliczenia współczynnika GGT-CDT według wzoru (1) [26], który został zmodyfikowany poprzez podstawienie %CDT zamiast stężenia CDT w surowicy. Ustalono, że wartości przekraczające 1,8% %CDT (dla obu płci) oraz 4,15% lub 3,56%

GGT-CDT (odpowiednia dla mężczyzn oraz kobiet) odpowiadają wysokiemu ryzyku spożywania znacznych ilości alkoholu. U mężczyzn stężenia GGT były wyższe niż u kobiet (Me odpowiednio 24 vs 13 u/l), także mediana współczynnika GGT-CDT była znacząco wyższa u mężczyzn niż u kobiet (2,36% vs 1,76%). Wartość GGT-CDT była dodatnia tylko u 9 z 16 (56%) i 19 z 28 (68%) kierowców CDT-dodatnich odpowiednio w grupach B i C. Z drugiej strony wartość GGT-CDT była dodatnia częściej niż izolowane CDT (24 vs 16 w grupie B i 34 vs 28 w grupie C): 15 kierowców było CDT-ujemnych, ale GGT-CDT-dodatnich. Na podstawie uzyskanych wyników autorzy wnioskowali, że dość często występują fałszywie ujemne wartości CDT. Jednak nawet jeśli czułość %CDT nie wynosi 100%, zaobserwowano, że u 37,5% kierowców CDT-ujemnych i jednocześnie GGT-CDT-dodatnich wartości CDT były znacznie niższe niż 90 percentyl rozkładu CDT. Może to wskazywać, że wiele wyników GGT-CDT jest fałszywie dodatnich, co sugeruje niższą wrażliwość współczynnika GGT-CDT w porównaniu z izolowaną wartością CDT [27].

W innych badaniach potwierdzono przydatność oznaczania %CDT u pijanych kierowców. Bortolotti i wsp. [23] wykazali, że u osób zatrzymanych za jazdę pod wpływem alkoholu częstość występowania podwyższonego %CDT była większa w porównaniu do populacji ogólnej. Ustalono, że wartość %CDT odpowiadającego wysokiemu ryzyku spożywania znacznych ilości alkoholu przez badanych to 2,0%. Badacze, na podstawie uzyskanych danych, uznali, że pomiar %CDT w surowicy mógłby być wykorzystywany do oceny ryzyka recydywy przez osobę ubiegającą się o odzyskanie prawa jazdy [23].

W Belgii pomiar %CDT jest używany w programach odzyskiwania prawa jazdy za jazdę pod wpływem alkoholu od 2008 r. Wykonuje się go 2 razy w miesiącu przez rok. Maenhout i wsp. [28] udowodnili, że takie działanie ma pozytywny efekt terapeutyczny, jeśli wartość 2,3 %CDT zostaje ustalona jako punkt odcięcia, powyżej którego ryzyko spożywania znacznych ilości alkoholu jest wysokie.

Bean i wsp. [29] udowodnili, że wykorzystanie wskaźników, takich jak połączenie %CDT z testem EDAC (Early Detection of Alcohol Consumption), poprawiło skuteczność monitorowania abstynencji u pacjentów i wykrywania tych, którzy z wysokim prawdopodobieństwem spożywali znaczną ilość alkoholu, mimo że starali się o odzyskanie prawa jazdy utraconego za prowadzenie pojazdów pod wpływem alkoholu. Ustalono, że wartość %CDT odpowiadającego

wysokiemu ryzyku spożywania znacznych ilości alkoholu przez badanych to 2,2%.

W szwedzkim badaniu obejmującym prawie 1000 osób (68% mężczyzn) sprawdzono wpływ wykonywania badań przesiewowych w kierunku nadużywania alkoholu podczas rutynowych badań pracowników u specjalistów medycyny pracy [30]. Wykorzystano kwestionariusz AUDIT oraz oznaczanie stężenia CDT w surowicy. Ustalono, że stężenie CDT odpowiadające wysokiemu prawdopodobieństwu spożywania znacznych ilości alkoholu to 20 u/l dla mężczyzn oraz 27 u/l dla kobiet. Podczas trwającej rok obserwacji wykazano, że takie działanie może zmniejszyć ilość spożywanego przez pracowników alkoholu. Autorzy zaznaczyli, że należy docenić działanie psychologiczne regularnego oznaczania stężenia wskaźnika w krwi [30].

W badaniu obejmującym 27 osób w wieku 14–20 lat nie potwierdzono przydatności oznaczania %CDT w wykrywaniu spożywania znacznych ilości alkoholu u osób młodocianych [31]. Wartości %CDT  $\geq 2,6\%$  były traktowane jako podwyższone. We wnioskach zaznaczono jednak, że to zagadnienie wymaga dalszych analiz m.in. ze względu na niewielką liczebność próby.

Ponieważ alkohol jest jedną z głównych przyczyn przedwczesnej śmierci w krajach rozwiniętych [32], w niektórych sytuacjach konieczna jest ocena, czy jego spożycie mogło mieć wpływ na zgon pacjenta. Popović i wsp. [33] wykazali, że oznaczenie stężenia CDT w surowicy podczas autopsji może być także pomocne w wykrywaniu nadużywania alkoholu. Autorzy nie podali jednak, jakie stężenie CDT uznali za potwierdzające spożywanie alkoholu przez denata.

Oznaczenie CDT może być również wykorzystywane do monitorowania abstynencji u kobiet ciężarnych. Howlett i wsp. [34] porównali wykorzystanie w tym celu kwestionariuszy samooceny, oznaczania %CDT oraz stężenia GGT w surowicy. Wyniki dotyczące stosowania kwestionariuszy i oznaczania %CDT były podobne, podwyższone stężenia GGT nie były swoiste. W badaniu przyjęto, że wartość %CDT odpowiadająca wysokiemu prawdopodobieństwu spożywania znacznej ilości alkoholu w ciąży to 1,6%.

### Glukuronian etylu

Glukuronian etylu (*ethyl glucuronide* – EtG) to metabolit, który powstaje w wątrobie w wyniku sprzęgania etanolu z kwasem urydyno-5'-difosfo-D-glukuronowym (UDP-glukuronowym). Jest wydalany z moczem, ale można wykryć jego obecność w innych tkankach i płynach ustrojowych, co stwarza dodatkowe możliwości

diagnostyczne [18] (tabela 1). Uważa się, że EtG jest bardzo czułym wskaźnikiem niedawnej konsumpcji alkoholu (*acute alcohol consumption*), czyli spożywania alkoholu kilka godzin lub dni przed badaniem, a także wskaźnikiem do rozpoznawania osób pijących umiarkowanie, ryzykownie i upijających się. W surowicy jest wykrywalny po 36 godz. od spożycia etanolu, a w moczu nawet po 3–5 dniach [16]. Okno detekcji EtG oznaczanego we włosach jest szacowane na 3–6 miesięcy, więc może on być używany do wykrywania osób pijących znaczne ilości alkoholu, pijących w sposób szkodliwy oraz w monitorowaniu okresu abstynencji [35]. Pomiar EtG w proksymalnym, 3-centymetrowym segmencie włosa cechuje się dużą czułością i swoistością (tabela 2), a na jego wynik nie mają wpływu wiek, płeć, kolor włosów ani choroby wątroby [36]. Z drugiej strony procedury oznaczania EtG w tym materiale wiążą się z potencjalnymi błędami przedlaboratoryjnymi i laboratoryjnymi [36], a wyniki mogą być zafałszowane np. u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek [37]. Pojawiają się także doniesienia, że okazjonalna ekspozycja na alkohol zawarty w produktach codziennego użytku (np. płyny do płukania jamy ustnej, żele do dezynfekcji rąk), a także spożycie drożdży piekarskich z cukrem lub bezalkoholowego piwa mogą spowodować wzrost stężenia EtG, dlatego bardzo ważne jest informowanie o tym pacjentów, u których planowane jest jego oznaczenie [14,38,39]. Śladowe ilości EtG występują naturalnie w winie, przez co możliwe jest zanieczyszczenie zewnętrzne próbki poddawanych analizie włosów. Może to skutkować wątpliwościami diagnostycznymi [40].

W USA oznaczenie stężenia EtG jako czuły wskaźnik niedawnego spożywania alkoholu jest wykorzystywane komercyjnie w programach leczenia uzależnień [16].

Zgodnie z niemieckimi wytycznymi [41] opracowanymi przez zespół Manna dotyczącymi diagnostyki i leczenia zaburzeń spowodowanych nadużywaniem alkoholu, w wykrywaniu niedawnej konsumpcji alkoholu oznaczenie stężenia EtG w moczu ma najwyższy stopień rekomendacji, a oznaczenie stężenia EtG we włosach jest zalecane w wykrywaniu przewlekłego nadużywania alkoholu.

Kummer i wsp. [42] badali skuteczność oznaczania stężenia EtG we włosach oraz w moczu w porównaniu z tradycyjnymi wykładnikami biochemicznymi w wykrywaniu osób nadużywających alkoholu. Udowodnili skuteczność oznaczania EtG we włosach, a stężenie  $\geq 38$  pg/mg włosów świadczyło według nich o wysokim

ryzyku spożywania znacznych ilości alkoholu. Także oznaczanie EtG w moczu było skuteczne w wykrywaniu nadużywania alkoholu: stężenie  $\geq 121$  ng/ml świadczyło o wysokim ryzyku niedawnej konsumpcji alkoholu. We wnioskach podkreślono, że stwierdzenie podwyższonych stężeń EtG w moczu i/lub we włosach może pozwolić udowodnić złamanie okresu abstynencji przez pacjenta. Takie monitorowanie abstynencji u kierowców mogłoby, według autorów, znaleźć zastosowanie w ramach programu odzyskiwania prawa jazdy utraconego za prowadzenie pojazdów pod wpływem alkoholu.

Glukuronian etylu może być również oznaczany w smółce noworodków w celu ustalenia ekspozycji dziecka na alkohol spożywany przez matkę (*prenatal alcohol exposure* – PAE). Stężenie EtG  $\geq 30$  ng/g smółki według Himes i wsp. [43] świadczyło o wysokim ryzyku PAE. Ograniczeniem takiego pomiaru jest wykrywanie narażenia na etanol tylko w trzecim, a w niektórych przypadkach także w drugim trymestrze ciąży (tj. od momentu, w którym smółka zaczyna być wytwarzana). Dlatego we wnioskach zaznaczono, że do monitorowania abstynencji u ciężarnych kobiet zasadne wydaje się wykorzystywanie obiektywnych wskaźników, takich jak EtG, w połączeniu z kwestionariuszami dotyczącymi spożywania alkoholu wypełnianymi przez pacjentki.

Potwierdzono także skuteczność wykorzystywania EtG w monitorowaniu abstynencji pacjentów przed przeszczepieniem wątroby oraz po nim. W badaniu, w którym wzięło udział 141 pacjentów, stężenie EtG oznaczane w moczu było najbardziej czułym i swoistym wskaźnikiem konsumpcji alkoholu spośród porównywanych testów [w tym stężenie EtOh (etanolu), metanolu, %CDT, ALT (aminotransferazy alaninowej), AST (aminotransferazy asparaginianowej), GGT ( $\gamma$ -glutamylotransferazy), MCV (średnia objętość krwinki czerwonej)] [44]. Stężenie EtG  $\geq 0,5$  mg/ml ustalono jako punkt odcięcia wyniku dodatniego w kierunku niedawnej konsumpcji alkoholu.

Warto zaznaczyć, że zgodnie z wytycznymi Niemieckiego Towarzystwa Medycznego (Die Bundesärztekammer – German Medical Association), przed wpisaniem pacjenta na listę osób oczekujących na przeszczepienie wątroby wymagane jest oznaczenie stężenia EtG w moczu, a następnie regularna kontrola tego parametru podczas oczekiwania na dawkę [45].

Rainio i wsp. [46] potwierdzają skuteczność oznaczania stężenia EtG podczas autopsji do rozpoznania nadużywania alkoholu. Porównywali oni stężenie związku w moczu, cieple szklistym, płynie mózgowo-rdzeniowym i w surowicy osób z dodatnim wywiadem

w kierunku nadużywania alkoholu z grupą kontrolną z negatywnym wywiadem. We wszystkich wymienionych materiałach biologicznych stężenie EtG w grupie badanej było istotnie statystycznie podwyższone. Najwyższą czułość wykazano dla stężenia EtG w moczu (92%) oraz w ciecie szklistym (92%). Autorzy podkreślili, że oznaczanie stężenia EtG może zostać wykorzystane w sekcjach sądowo-medycznych do oceny, czy denat kilka dni przed śmiercią spożywał alkohol. W publikacji nie określono dokładnych wartości stężeń potwierdzających spożywanie alkoholu przed śmiercią.

### Fosfatydyloetanol

Fosfatydyloetanol (*phosphatidylethanol* – PEth) powstaje jako produkt reakcji etanolu z fosfolipidami błon komórkowych [18]. Z diagnostycznego punktu widzenia najważniejszym miejscem powstawania PEth jest powierzchnia erytrocytów. W organizmie tworzy się tylko w obecności alkoholu: dlatego ma wysoką swoistość [25]. Regularne przyjmowanie 40–50 g etanolu na dobę przez co najmniej 2–3 tygodnie podnosi stężenie PEth w krwi, a wynik dodatni utrzymuje się przez około 14 dni po zaprzestaniu picia [16]. Dlatego PEth jest uważany za wskaźnik wiarygodny w przypadku osób pijących znaczne ilości alkoholu oraz pijących w sposób szkodliwy.

Pojawiają się jednak doniesienia o nowszych, bardziej czułych metodach analitycznych oznaczania PEth, które pozwalają wykryć nawet jednorazowe spożycie etanolu podczas monitorowania abstynencji [47]. Warto zaznaczyć, że obecność PEth można wykrywać także we krwi włośniczkowej, pobierając materiał na bibułę metodą suchej kropli krwi (*dried blood spot* – DBS). Jest to procedura mniej inwazyjna od wenopunkcji, mogłaby więc być powszechniej stosowana w miejscach z ograniczonym dostępem do wykwalifikowanego personelu medycznego [48].

Powstawanie PEth nie zależy od wskaźników hematologicznych (takich jak liczba erytrocytów, hematokryt, MCV), wieku, płci oraz od chorób współistniejących, które nie są spowodowane spożywaniem alkoholu [14].

Udowodniono przydatność oznaczania PEth w wykrywaniu nadużywania alkoholu u osób z chorobami wątroby, jednak interpretacja wyników jest w takich przypadkach utrudniona [49].

Obserwuje się dodatnią zależność pomiędzy ilością spożywanego etanolu a stężeniem PEth w krwi, jednak z uwagi na dużą zmienność osobniczą ilości związku wytwarzanego w odpowiedzi na alkohol, pojedyncze oznaczenie pozwala tylko na przybliżoną ocenę ilości alkoholu spożytego w ostatnim czasie [50].

Neumann i wsp. [51] porównywali wykorzystanie wskaźników nadużywania alkoholu do oceny pacjentów zgłaszających się do lekarzy medycyny pracy przed podjęciem zatrudnienia. W grupie 509 dorosłych osób, w większości bezrobotnych, oznaczano we krwi stężenie etanolu, GGT, MCV, %CDT, EtG oraz PEth. W badaniu przyjęto, że osoby u których stężenie PEth wynosiło  $>0,30 \mu\text{mol/l}$ , były uznawane za należące do grupy ryzyka spożywania znacznej ilości alkoholu lub spożywania alkoholu w sposób szkodliwy, zaś stężenia w przedziale  $0,050\text{--}0,30 \mu\text{mol/l}$ , oznaczały wysokie ryzyko picia umiarkowanego lub ryzykownego. Oznaczanie stężenia PEth w surowicy miało najwyższą czułość w porównaniu z pozostałymi wskaźnikami w wykrywaniu osób pijących znaczne ilości alkoholu.

Ullwelling i Smith [52] zwrócili uwagę, że osoby uzależnione od alkoholu oraz szkodliwie spożywające etanol mogą być źródłem ujawnienia tajnych informacji. Dlatego postulują wykorzystanie oznaczania PEth u pracowników mających dostęp do danych poufnych, np. zatrudnionych w administracji rządowej, w instytucjach finansowych czy w wojsku. Na podstawie przeanalizowanej literatury zaproponowali oni 3 progi stężeń PEth w surowicy, kwalifikujące badanych jako: osoby niepijące alkoholu lub pijące umiarkowanie  $<20\text{g/ml}$ , pijące ryzykownie –  $20\text{--}200 \text{ng/ml}$  oraz pijące znaczne ilości alkoholu –  $>200 \text{ng/ml}$ . Autorzy podkreślili, że porównywanie oznaczonego stężenia PEth we krwi z wynikami ankiet dotyczących ilości spożywanego alkoholu może być wskaźnikiem prawdopodobności pracownika.

We wspomnianym badaniu Kummer i wsp. [42] potwierdzają skuteczność oznaczania stężenia PEth w monitorowaniu abstynencji u kierowców w ramach programu odzyskiwania prawa jazdy utraconego z powodu prowadzenia pojazdów pod wpływem alkoholu. Stężenie PEth  $\geq 274 \text{ng/ml}$  uznawano w badaniu za świadczące o wysokim ryzyku spożywania znacznych ilości alkoholu lub picia w sposób szkodliwy [42].

Helander i wsp. [53] porównywali wykorzystanie PEth, CDT, EtG oraz siarczanu etylu (*ethyl sulfate* – EtS) w wykrywaniu nawrotów spożywania alkoholu u pacjentów z rozpoznaniem uzależnieniem od alkoholu lub szkodliwie spożywających alkohol, którzy byli poddawani terapii w warunkach ambulatoryjnych. Najbardziej czułym wskaźnikiem spożywania znacznych ilości alkoholu przez pacjentów był PEth. Uznano, że stężenie  $>0,70 \mu\text{mol/l}$  oznacza ryzyko spożywania znacznych ilości alkoholu. Podczas 2-letniej obserwacji badanych zauważono istotne ograniczenie ilości



spożywanego alkoholu w grupie badanych: przyczyną mogły być regularne kontrolne badania biochemiczne. Autorzy podkreślają, że wykorzystanie wskaźników jako obiektywnych narzędzi oceny pacjentów może być pomocne w opiece ambulatoryjnej [53].

Także Luginbühl i wsp. [54] badali możliwość wykorzystania wskaźników biochemicznych u pacjentów zakwalifikowanych do leczenia odwykowego. Pomiar stężeń PEth, EtG oraz EtS okazały się przydatne w monitorowaniu abstynencji. W publikacji nie określono stężenia PEth w surowicy, powyżej którego istniało wysokie ryzyko spożywania znacznych ilości alkoholu – porównywano wartości stężeń wskaźników biochemicznych podczas kolejnych wizyt. Potwierdzono skuteczność oznaczania PEth metodą DBS, która może stanowić mniej inwazyjną alternatywę dla pobierania krwi żyłnej.

Udowodniono także skuteczność wykorzystania PEth w medycynie transplantacyjnej w ocenie okresu abstynencji. W badaniu przeprowadzonym przez Andersena-Steicherta i wsp. [55] PEth miał wyższą czułość w wykrywaniu niedawnej konsumpcji alkoholu niż wskaźniki takie jak etanol, metanol, %CDT czy EtG (oznaczane w moczu i we włosach) u pacjentów przed przeszczepieniem wątroby i po przeszczepieniu. Uznano, że stężenie >20 ng/ml oznacza wysokie ryzyko niedawnej konsumpcji alkoholu.

## WNIOSKI

Alkoholizm stanowi istotny problem społeczny, ekonomiczny oraz pilne wyzwanie w zakresie diagnostyki, terapii i profilaktyki dla lekarzy wielu specjalności. Szczególnie istotna jest rola służby medycyny pracy: do jej zadań należy ochrona zdrowia pracowników, dbanie o bezpieczeństwo osób na drogach publicznych, szlakach morskich oraz w zakładach pracy. Bardzo ważnym elementem walki z nadużywaniem alkoholu jest wczesne wykrycie problemu. Ukrywanie przez pacjentów faktycznych ilości spożywanego etanolu jest jedną z głównych przyczyn utrudniających leczenie i profilaktykę alkoholizmu.

Przedstawienie aktualnej wiedzy na temat obiektywnych wskaźników nadużywania alkoholu może pomóc w walce z tym zjawiskiem. Z badań wiadomo, że stosowanie czułych i swoistych biochemicznych testów niedawnej konsumpcji alkoholu w połączeniu z testami przewlekłego nadużywania etanolu jest najlepszym sposobem obiektywnego monitorowania ilości alkoholu spożywanego przez pacjentów oraz pracowników

zakładów pracy. Regularne wykonywanie badań biochemicznych może być także istotnym czynnikiem motywującym do ograniczenia konsumpcji alkoholu.

Zgodnie z danymi przedstawionymi w tej pracy wiele wysiłku należy jeszcze poświęcić doskonaleniu i standaryzacji metod oznaczania wskaźników w materiale biologicznym. Wyniki pomiarów mogą być trudne do interpretacji, szczególnie u pacjentów obciążonych innymi chorobami. Prowadzone są badania dotyczące także innych wskaźników, które mogą być pomocne w walce z alkoholizmem.

Na podstawie przedstawionych informacji można uznać, że wykorzystywanie wskaźników biochemicznych do wykrywania nadużywania alkoholu oraz monitorowania abstynencji powinno być coraz powszechniejsze. Szczególną rolę mogą one pełnić w diagnostyce w medycynie pracy, przyczyniając się do zwiększenia bezpieczeństwa na drogach publicznych oraz bezpieczeństwa pracowników w zakładach pracy.

## PIŚMIENNICTWO

1. World Health Organization: Global status report on alcohol and health 2018. The Organization, Geneva 2018
2. Główny Urząd Statystyczny: Stan zdrowia ludności Polski w 2014 r. Urząd, Warszawa 2016
3. Malińska M.: Prezenteizm – zjawisko nieefektywnej obecności w pracy. *Med. Pr.* 2013;64(3):439–447, <https://doi.org/10.13075/mp.5893.2013.0037>
4. Tecco J., Jacques D., Annemans L.: The cost of alcohol in the workplace in Belgium. *Psychiatr. Danub.* 2013;25 Supl. 2: 118–123
5. Sullivan T., Edgar F., McAndrew I.: The hidden costs of employee drinking: A quantitative analysis. *Drug. Alcohol Rev.* 2019;38:543–553, <https://doi.org/10.1111/dar.12935>
6. Dhalla S., Kopec J.A.: The CAGE questionnaire for alcohol misuse: a review of reliability and validity studies. *Clin. Invest. Med.* 2007;30:33–41, <https://doi.org/10.25011/cim.v30i1.447>
7. Williams N.: The AUDIT questionnaire. *Occup. Med.* 2014;64:308, <https://doi.org/10.1093/occmed/kqu011>
8. Chan A.W., Pristach E.A., Welte J.W.: Detection of alcoholism in three populations by the brief-MAST. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 1994;18:695–701, <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1994.tb00933.x>
9. Helander A., Wielders J., Anton R., Arndt T., Bianchi V., Deenmamode J. i wsp.: Reprint of Standardisation and use of the alcohol biomarker carbohydrate-deficient transferrin (CDT). *Clin. Chim. Acta.* 2017;467:15–20, <https://doi.org/10.1016/j.cca.2017.03.018>

10. MacKenzie D., Langa A., Brown T.M.: Identifying hazardous or harmful alcohol use in medical admissions: a comparison of audit, cage and brief mast. *Alcohol Alcohol.* 1996;31:591–599, <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.alcalc.a008195>
11. Conigrave K.M., Davies P., Haber P., Whitfield J.B.: Traditional markers of excessive alcohol use. *Addiction* 2003;98 Supl. 2:31–43, <https://doi.org/10.1046/j.1359-6357.2003.00581.x>
12. Staufer K., Yegles M.: Biomarkers for detection of alcohol consumption in liver transplantation. *World J. Gastroenterol.* 2016;22:3725–3734, <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i14.3725>
13. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 29 sierpnia 2019 r. w sprawie badań lekarskich osób ubiegających się o uprawnienia do kierowania pojazdami i kierowców. *DzU z 2019 r., poz. 1659*
14. Jastrzębska I., Zwolak A., Szczyrek M., Wawryniuk A., Skrzydło-Radomańska B., Daniluk J.: Biomarkers of alcohol misuse: recent advances and future prospects. *Przegl. Gastroenterol.* 2016;11:78–89, <https://doi.org/10.5114/pg.2016.60252>
15. Dasgupta A. [red.]: *Critical Issues in Alcohol and Drugs of Abuse Testing* Wyd. 2. Academic Press, London 2019, <https://doi.org/10.1016/c2017-0-02017-7>
16. Waszkiewicz N., Popławska R., Konarzewska B., Szajda S.D., Galińska B., Rutkowski P. i wsp.: Biomarkers of alcohol abuse. Part II. New biomarkers and their interpretation. *Psychiatr. Pol.* 2010;44:137–146
17. Niemelä O.: Biomarkers in alcoholism. *Clin. Chim. Acta* 2007;377:39–49, <https://doi.org/10.1016/j.cca.2006.08.035>
18. Geppert B., Tezyk A., Zaba C.: Biochemical markers for acute and chronic alcohol consumption. *Przegl. Lek.* 2012;69:1163–1167
19. De Feo T.M., Fargion S., Duca L., Mattioli M., Cappellini M.D., Sampietro M. i wsp.: Carbohydrate-deficient transferrin, a sensitive marker of chronic alcohol abuse, is highly influenced by body iron. *Hepatology* 1999;29:658–663, <https://doi.org/10.1002/hep.510290326>
20. Bergström J.P., Helander A.: HPLC evaluation of clinical and pharmacological factors reported to cause false-positive carbohydrate-deficient transferrin (CDT) levels. *Clin. Chim. Acta* 2008;389:164–166, <https://doi.org/10.1016/j.cca.2007.11.020>
21. Stewart S.H., Comte-Walters S., Bowen E., Anton R.F.: Liver Disease and HPLC Quantification of Disialotransferrin for Heavy Alcohol Use: A Case Series. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2010;34:1956–1960, <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2010.01285.x>
22. Waszkiewicz N., Konarzewska B., Waszkiewicz M., Popławska R., Szajda S.D., Zalewska A. i wsp.: Biomarkers of alcohol abuse. Part I. Traditional biomarkers and their interpretation. *Psychiatr. Pol.* 2010;44:127–136
23. Bortolotti F., Trettene M., Gottardo R., Bernini M., Ricoso M.C., Tagliaro F.: Carbohydrate-deficient transferrin (CDT): a reliable indicator of the risk of driving under the influence of alcohol when determined by capillary electrophoresis. *Forensic Sci. Int.* 2007;170(2–3):175–178, <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2007.03.022>
24. Food and Drug Administration (FDA). A Reduction in the World Health Organization (WHO) Risk Levels of Alcohol Consumption as an Efficacy Outcome in Alcohol Use Disorder (AUD) Clinical Trials. National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism (NIAAA), Silver Spring 2018
25. Niemelä O.: Biomarker-Based Approaches for Assessing Alcohol Use Disorders. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2016;13:166, <https://doi.org/10.3390/ijerph13020166>
26. Sillanauke P., Olsson U.: Improved diagnostic classification of alcohol abusers by combining carbohydrate-deficient transferrin and gamma-glutamyltransferase. *Clin. Chem.* 2001;47:681–685
27. Bianchi V., Ivaldi A., Raspagni A., Arfini C., Vidali M.: Use of Carbohydrate-Deficient Transferrin (CDT) and a Combination of GGT and CDT (GGT-CDT) to Assess Heavy Alcohol Consumption in Traffic Medicine. *Alcohol Alcohol.* 2010;45:247–251, <https://doi.org/10.1093/alcalc/agg006>
28. Maenhout T.M., Baten G., De Buyzere M.L., Delanghe J.R.: Carbohydrate Deficient Transferrin in a Driver's License Regranting Program. *Alcohol Alcohol.* 2012;47:253–260, <https://doi.org/10.1093/alcalc/ags013>
29. Bean P., Roska C., Harasymiw J., Pearson J., Kay B., Louks H.: Alcohol biomarkers as tools to guide and support decisions about intoxicated driver risk. *Traffic Inj. Prev.* 2009;10:519–527, <https://doi.org/10.1080/15389580903163269>
30. Hermansson U., Helander A., Brandt L., Huss A., Rönnerberg S.: Screening and brief intervention for risky alcohol consumption in the workplace: results of a 1-year randomized controlled study. *Alcohol Alcohol.* 2010;45:252–257, <https://doi.org/10.1093/alcalc/agg021>
31. Deas D., Johnson N., Thomas S.: Carbohydrate deficient transferrin (CDT) predicts heavy drinking in adolescents with alcohol dependence. *Alcohol* 2019;81:27–30, <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2019.06.002>
32. Committee on Population, Division of Behavioral and Social Sciences and Education, Board on Health Care Services, National Research Council, Institute of Medicine

- (USA). Measuring the Risks and Causes of Premature Death: Summary of Workshops. National Academies Press, Washington 2015, <https://doi.org/10.17226/21656>
33. Popović V., Atanasijević T., Nikolić S., Bozić N., Vujčić Z., Micić-Labudović J.: Forensic aspects of postmortem serum carbohydrate-deficient transferrin analysis as a marker of alcohol abuse. *Srp. Arh. Celok. Lek.* 2013;141:203–206, <https://doi.org/10.2298/sarh1304203p>
34. Howlett H., Mackenzie S., Gray W.K., Rankin J., Nixon L., Richardson A. i wsp.: Assessing prevalence of alcohol consumption in early pregnancy: Self-report compared to blood biomarker analysis. *Eur. J. Med. Genet.* 2018;61:531–538, <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2018.05.009>
35. Boscolo-Berto R., Favretto D., Cecchetto G., Vincenti M., Kronstrand R., Ferrara S.D. i wsp.: Sensitivity and specificity of EtG in hair as a marker of chronic excessive drinking: pooled analysis of raw data and meta-analysis of diagnostic accuracy studies. *Ther. Drug Monit.* 2014;36:560–575, <https://doi.org/10.1097/FTD.0000000000000063>
36. Biondi A., Freni F., Carelli C., Moretti M., Morini L.: Ethyl glucuronide hair testing: A review. *Forensic Sci. Int.* 2019;300:106–119, <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2019.05.004>
37. Fosen J.T., Morini L., Sempio C., Ganss R., Mørland J., Høiseth G.: Levels of Hair Ethyl Glucuronide in Patients with Decreased Kidney Function: Possibility of Misclassification of Social Drinkers. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 2016;40:451–456, <https://doi.org/10.1111/acer.12970>
38. Thierauf A., Wohlfarth A., Auwärter V., Perdekamp M.G., Wurst F.M., Weinmann W.: Urine tested positive for ethyl glucuronide and ethyl sulfate after the consumption of yeast and sugar. *Forensic Sci. Int.* 2010;202:e45–47, <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2010.06.028>
39. Thierauf A., Gnann H., Wohlfarth A., Auwärter V., Perdekamp M.G., Buttler K-J. i wsp.: Urine tested positive for ethyl glucuronide and ethyl sulphate after the consumption of “non-alcoholic” beer. *Forensic Sci. Int.* 2010;202:82–85, <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2010.04.031>
40. Müller A., Iwersen-Bergmann S.: Ethyl Glucuronide in Alcoholic Beverages. *Alcohol Alcohol.* 2018;53:532–538, <https://doi.org/10.1093/alcalc/agy033>
41. Mann K., Batra A., Fauth-Bühler M., Hoch E.: German Guidelines on Screening, Diagnosis and Treatment of Alcohol Use Disorders. *Eur. Addict. Res.* 2017;23:45–60, <https://doi.org/10.1159/000455841>
42. Kummer N., Wille S.M.R., Poll A., Lambert W.E.E., Samyn N., Stove C.P.: 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 Alcohol Depend.* 2016;165:191–197, <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2016.06.012>
43. Himes S.K., Dukes K.A., Tripp T., Petersen J.M., Raffo C., Burd L. i wsp.: Clinical sensitivity and specificity of meconium fatty acid ethyl ester, ethyl glucuronide, and ethyl sulfate for detecting maternal drinking during pregnancy. *Clin. Chem.* 2015;61:523–532, <https://doi.org/10.1373/clinchem.2014.233718>
44. Staufer K., Andresen H., Vettorazzi E., Tobias N., Nashan B., Sterneck M.: Urinary ethyl glucuronide as a novel screening tool in patients pre- and post-liver transplantation improves detection of alcohol consumption. *Hepatology* 2011;54:1640–1649, <https://doi.org/10.1002/hep.24596>
45. Andresen-Streichert H., Müller A., Glahn A., Skopp G., Sterneck M.: Alcohol Biomarkers in Clinical and Forensic Contexts. *Dtsch. Arztebl. Int.* 2018;115:309–315, <https://doi.org/10.3238/arztebl.2018.0309>
46. Rainio J., Ahola S., Kangastupa P., Kultti J., Tuomi H., Karhunen P.J. i wsp.: Comparison of ethyl glucuronide and carbohydrate-deficient transferrin in different body fluids for post-mortem identification of alcohol use. *Alcohol Alcohol.* 2014;49:55–59, <https://doi.org/10.1093/alcalc/agt159>
47. Schröck A., Thierauf-Emberger A., Schürch S., Weinmann W.: Phosphatidylethanol (PEth) detected in blood for 3 to 12 days after single consumption of alcohol – a drinking study with 16 volunteers. *Int. J. Legal Med.* 2017;131:153–160, <https://doi.org/10.1007/s00414-016-1445-x>
48. Beck O., Kenan Modén N., Seferaj S., Lenk G., Helander A.: Study of measurement of the alcohol biomarker phosphatidylethanol (PEth) in dried blood spot (DBS) samples and application of a volumetric DBS device. *Clin. Chim. Acta* 2018;479:38–42, <https://doi.org/10.1016/j.cca.2018.01.008>
49. Stewart S.H., Koch D.G., Willner I.R., Anton R.F., Reuben A.: Validation of blood phosphatidylethanol as an alcohol consumption biomarker in patients with chronic liver disease. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 2014;38:1706–1711, <https://doi.org/10.1111/acer.12442>
50. Helander A., Hermansson U., Beck O.: Dose-Response Characteristics of the Alcohol Biomarker Phosphatidylethanol (PEth) – A Study of Outpatients in Treatment for Reduced Drinking. *Alcohol Alcohol.* 2019;54:567–573, <https://doi.org/10.1093/alcalc/agz064>
51. Neumann J., Beck O., Helander A., Böttcher M.: Performance of PEth Compared With Other Alcohol Biomarkers in Subjects Presenting For Occupational and Pre-Employment Medical Examination. *Alcohol Alcohol.* 2020;55(4):401–408, <https://doi.org/10.1093/alcalc/agaa027>

52. Ulwelling W, Smith K.: The PEth Blood Test in the Security Environment: What it is; Why it is Important; and Interpretative Guidelines. *J. Forensic Sci.* 2018;63:1634–1640, <https://doi.org/10.1111/1556-4029.13874>
53. Helander A., Péter O., Zheng Y.: Monitoring of the alcohol biomarkers PEth, CDT and EtG/EtS in an outpatient treatment setting. *Alcohol Alcohol.* 2012;47:552–557, <https://doi.org/10.1093/alcalc/ags065>
54. 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;11:859–869, <https://doi.org/10.1002/dta.2567>
55. Andresen-Streichert H., Beres Y., Weinmann W., Schröck A., Müller A., Skopp G. i wsp.: Improved detection of alcohol consumption using the novel marker phosphatidylethanol in the transplant setting: results of a prospective study. *Transpl. Int.* 2017;30:611–620, <https://doi.org/10.1111/tri.12949>
56. Helander A., Böttcher M., Fehr C., Dahmen N., Beck O.: Detection times for urinary ethyl glucuronide and ethyl sulfate in heavy drinkers during alcohol detoxification. *Alcohol Alcohol.* 2009;44(1):55–61, <https://doi.org/10.1093/alcalc/agn084>
57. Jarema M., Rabe-Jabłońska J. [red.]: *Psychiatria. Podręcznik dla studentów medycyny.* Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2011