

## TRASTORNOS DEL ESPECTRO ALCOHÓLICO FETAL. BIOMARCADORES DEL CONSUMO DE ETANOL DURANTE LA GESTACIÓN.

FETAL ALCOHOL SPECTRUM DISORDERS. BIOMARKERS OF ETHANOL CONSUMPTION DURING PREGNANCY.

*PERTURBAÇÕES DO ESPECTRO DO ALCOOLISMO FETAL. BIOMARCADORES DE CONSUMO DE ETANOL DURANTE A GRAVIDEZ.*

### Resumen

El consumo de alcohol durante la gestación está asociado con un amplio espectro de efectos adversos conocidos como trastornos del espectro alcohólico fetal (TEAF). Así es como a través del dosaje de los esteres etílicos de ácidos grasos (FAEEs) en meconio, como biomarcadores de exposición prenatal al consumo de etanol, nos brinda una herramienta importantísima en el screening de los recién nacidos, facilitando la confirmación del diagnóstico y la intervención clínica adecuada en los individuos afectados por esta problemática con una mejora en las expectativas y calidad de vida. El síndrome alcohólico fetal (SAF) representa el clásico síndrome y la manifestación más grave inducido por el alcohol de forma repetida durante el embarazo. Dado el carácter heterogéneo de las alteraciones clínicas presentes en los recién nacidos expuestos a etanol, la mayoría de los cuales no son específicos, conlleva a un diagnóstico del TEAF extremadamente difícil.

**Palabras clave:** SAF – meconio – FAEEs.

Suárez H.A.<sup>1,2</sup>;  
Rivolta S.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Hospital de Niños de la Santísima Trinidad.

<sup>2</sup>Facultad de Ciencias Químicas Universidad Nacional de Córdoba.

<sup>3</sup>CIFyTGeL.

Contacto: Ferroviarios 1250  
(B° Crisol) 3514586486  
addressua25@hotmail.com

MONOGRAFIA

Trabajo recibido: 11 de  
Octubre 2015.

Aprobado: 02 Febrero  
2016.

## Abstract:

Alcohol consumption during pregnancy is associated with a wide range of adverse effects known as fetal alcohol spectrum disorders (FASDs). Through the measurement of Fatty Acid Ethyl Esters (FAEEs) in meconium, as biomarkers of prenatal alcohol exposure, we have a very important tool in the screening of newborns, facilitating the confirmation of diagnosis and adequate clinical intervention in individuals affected by this problem with improvements in life quality and expectancy. Fetal Alcohol Syndrome (FAS) represents the classic syndrome and the most serious condition is caused by repetitive alcohol consumption during pregnancy. Due to the heterogeneous characteristics of clinical alterations of newborns exposed to ethanol, most of which are not specific, diagnosis of FASDs is extremely difficult.

**Key words:** FAS, meconium, FAEEs.

## Resumo:

O consumo de álcool durante a gravidez é associado a um amplo espectro de efeitos adversos conhecidos, tais como transtornos do espectro do alcoolismo fetal (TEAF). É assim como através da dosagem dos ésteres etílicos de ácidos graxos (FAEEs) em mecônio, como biomarcadores de exposição pré-natal ao consumo de etanol, fornece uma ferramenta importantíssima na triagem de recém-nascidos, aprimorando a confirmação do diagnóstico e a intervenção clínica adequada em indivíduos afectados por este problema com uma melhoria das expectativas e qualidade de vida. Síndrome alcoólica fetal (FAS) representa a síndrome clássica e a mais grave manifestação induzida frequentemente pelo álcool durante a gravidez. Dada a heterogeneidade das alterações clínicas em recém-nascidos expostos ao etanol, a maioria das quais são não-específicas, esta situação gera um diagnóstico de TEAF extremamente difícil.

**Palavras-chave:** SAF - mecônio - FAEEs.

## Introducción:

El etanol es uno de los principales químicos presente en las bebidas alcohólicas, y es una de las sustancias adictivas más consumidas en el mundo. En nuestro medio, el alcoholismo materno fetal es un hecho casi ignorado y es muy importante en la génesis de muchas enfermedades neuropsiquiátricas del niño, el adolescente y el adulto. El consumo de alcohol durante la gestación está asociado con un amplio espectro de efectos adversos conocidos como trastornos del espectro alcohólico fetal. El síndrome alcohólico fetal representa el clásico síndrome y la manifestación más grave, originada por los cambios epigenéticos inducidos por el alcohol de forma repetida durante el embarazo (1, 2). Son numerosos los efectos a nivel funcional y estructural relacionados al consumo de etanol por la gestante, especialmente a nivel del desarrollo del sistema nervioso central en el feto. El patrón y severidad de estos efectos dependen de la dosis, tiempo y duración de la exposición (3). El valor de corte de la ingesta de alcohol para una gestante, en la aparición de la embriopatía alcohólica hoy es incierto, y se sugiere que no existe una dosis segura de alcohol durante el embarazo (4). El diagnóstico del TEAF es un desafío hoy, y por lo general requiere de la confirmación del consumo de alcohol por la gestante. Establecer la prevalencia y otras características epidemiológicas de los Trastornos del Espectro Alcohólico Fetal y del Síndrome Alcohólico Fetal ha sido un reto para los investigadores, que han usado diversos métodos para su diagnóstico, como auto-reportes maternos y la medición de biomarcadores en diferentes matrices biológicas (1). El screening en recién nacidos a través del análisis de los ésteres etílicos de ácidos grasos, ha sido una herra-

mienta de gran valor diagnóstica del TEAF, pudiendo facilitar la detección precoz y la intervención clínica en los individuos afectados por el alcohol (5).

## Desarrollo:

Aunque varias referencias históricas indican que los efectos negativos del alcohol en el feto en desarrollo se conocen desde hace muchos siglos, no fue sino hasta los años sesenta (1968) que un patrón de déficits en los niños se ha relacionado con el consumo materno de alcohol durante el embarazo. Ya en la década del setenta, un grupo de investigadores norteamericanos introducen el término de Síndrome de Alcohol Fetal a la comunidad médica con las descripciones características del recién nacido expuesto a altas dosis de alcohol durante la gestación (1). Posteriormente los investigadores reunieron todos estos datos observables en los hijos de madres alcohólicas, y relacionadas al consumo gestacional de etanol, en un grupo de trastornos a los que denominaron “trastornos del espectro del alcoholismo fetal”. Estos TEAF engloban, por un lado, a los casos puros de SAF y los SAF parciales (SAFp). Estos últimos se desglosan en trastornos congénitos relacionados con el alcohol (ARBD, alcohol-related birth defects) y trastornos del neurodesarrollo relacionados con el alcohol (ARND, alcohol-related neurodevelopmental disorders) (1, 3, 4). El diagnóstico clínico del SAF reposa en una tríada de elementos clínicos que constituyen el conjunto principal de las manifestaciones del síndrome. Estas manifestaciones son: a) el retraso del crecimiento intrauterino y extrauterino; b) dismorfismo facial característico; y c) anomalías morfofuncionales del neurodesarrollo en el sistema nervioso central (SNC). Dado el carácter heterogéneo de las alteraciones presentes en el TEAF, la mayoría de los cuales no son específicos de la exposición prenatal al alcohol, conlleva a un diagnóstico extremadamente difícil. Varios criterios para el diagnóstico se han desarrollado de los cuales resaltamos los siguientes: el Instituto de Medicina (OIM) (7); el “Código Diagnóstico de 4 dígitos” (8); las directivas del Centro de Control de Enfermedades (CDC); y las directrices canadienses para el diagnóstico de referencia relacionados con TEAF (2). Contar con los antecedentes de consumo de alcohol por parte de la gestante durante el embarazo es importante para la confirmación del diagnóstico, pero pocas veces está disponible este dato al interrogatorio médico (6). En esencia, el SAF es un diagnóstico de exclusión cuando la historia de consumo de la madre no está disponible (9). Los individuos que tienen algunas, pero no todas las características del TEAF pueden ser diagnosticados como ARND y ARBD. Otros síndromes y factores potenciales deben ser excluidos a través de una confirmación del consumo materno de alcohol. Con las herramientas diagnósticas disponibles, se observó un subdiagnóstico del SAF, llevando a proponer para otras presentaciones clínicas un SAF parcial. La confirmación de la exposición materna de alcohol requerida para hacer estos diagnósticos, es hoy un reto particular, lo que limita la capacidad del profesional médico para arribar al diagnóstico de la mayoría de los casos de TEAF con el uso solitario de las herramientas clínicas (2,6). En la actualidad, no se sabe a ciencia cierta cuántas personas se ven afectadas por TEAF, ya que la investigación epidemiológica en esta área está severamente limitada por la dificultad en la identificación y el diagnóstico de los individuos afectados. Las tasas tanto de SAF y el resto de los TEAF son subestimados, sumados al subregistro del consumo materno de alcohol durante el embarazo (que es de vital importancia para el diagnóstico en ausencia de características físicas), y la falta de conocimientos médicos en el diagnóstico de los individuos afectados (10). Las estimaciones actuales de incidencia de SAF y TEAF varían entre los distintos estudios en función de la metodología y de la población evaluada. Los estudios han informado tasas de SAF en el rango de 1 a 7 casos por cada 1.000 nacidos vivos en varias poblaciones de los Estados Unidos (11, 12). Sin embargo, se reportan tasas sustancialmente más altas de SAF en poblaciones de alto riesgo. La posibilidad de implementar una herramienta diagnóstica de mayor sensibilidad y especificidad

para la confirmación diagnóstica presuntiva ante un caso de TEAF, permitiría no sólo a la identificación de un neonato en riesgo por la exposición continua a etanol, sino a la ejecución inmediata de pautas clínicas específicas para el tratamiento del recién nacido y de la gestante. Muchos biomarcadores fueron investigados (tanto a nivel materno como en el neonato), de los cuales destacaremos la medición de los ésteres etílicos de ácidos grasos en meconio. Los FAEEs (los productos de conjugación de etanol y ácidos grasos) son los metabolitos de la vía no oxidativa mejor estudiados hasta la fecha. Las diferentes especies de FAEEs se sintetizan en función del ácido graso que está esterificado a etanol. Debido a su naturaleza lipofílica, los FAEEs pueden acumularse en diversos tejidos tales como el corazón, tejido adiposo, hígado, páncreas y cerebro, permitiendo que sirvan como marcadores de la exposición al alcohol en forma crónica (13, 14). Con respecto a la determinación de la exposición prenatal al alcohol, la matriz que ha recibido la mayor atención y se considera que es la más fiable en el screening neonatal es el meconio. Esta matriz biológica acumula los FAEEs (depósito), que potencialmente pueden proporcionar un registro de la exposición al alcohol en el útero durante los dos últimos trimestres del embarazo. Los FAEEs en meconio han sido investigados como biomarcadores de exposición fetal a etanol por varios grupos de investigadores (15, 20). Dado que los estudios de perfusión de la placenta han demostrado que los FAEEs no cruzan este órgano, aquellos que fueron hallados en los tejidos fetales, incluyendo meconio, indican que son un producto del metabolismo fetal de etanol (18). Aunque la síntesis de FAEE no ha sido completamente caracterizada en el feto, sí ha sido demostrada en la placenta humana y la placenta de ratón, embrión de ratón, cultivos primarios de células cerebrales de feto de rata, cerebro de rata, y en el cerebro fetal humano (segundo trimestre), lo que demuestra que la actividad de la enzima necesaria para la síntesis FAEE está presente en los fetos y tejido fetal cerebral, en estadios relativamente tempranos en la gestación. La presencia de FAEEs en meconio fue documentado ya en estudios desde los años noventa. Estos primeros estudios encontraron niveles elevados de FAEEs en meconio de los bebés nacidos de mujeres consumidoras de alcohol. Específicamente en un estudio, reportaron concentraciones mucho más altas de FAEEs en el meconio de un recién nacido de una madre consumidora de alcohol en el embarazo, en comparación con el meconio de tres controles de madres no consumidoras (19). Los ésteres palmítico, linoleico y ésteres etílicos esteárico se encontraron en el meconio del bebé expuesto y no en los controles. En otro estudio se investigaron la presencia de linoleato de etilo en el meconio de los recién nacidos de mujeres que informaron cantidades variables de consumo de alcohol durante el embarazo. La presencia de éster etílico de linoleato presentaba un 72 % de sensibilidad y 51 % de especificidad para las mujeres que consumían al menos una bebida a la semana en el tercer trimestre de los que se habían abstenido en esa cohorte. En un estudio posterior de este grupo, en una población diferente, el éster etílico oleico resultó ser un marcador superior para la exposición de etanol y se correlacionó más fuertemente con el consumo materno (auto-reportes) en el embarazo, en comparación con otras especies de FAEEs. El valor de corte positivo óptimo de 32 ng / g de éster etílico oleico en meconio tuvo una sensibilidad del 84,2 % y una especificidad del 83,3 % para la identificación de las mujeres que informaron beber  $\geq 1,5$  oz alcohol puro por día. En otro estudio, donde se recogió el meconio de 30 bebés no expuestos y 248 infantes de con diferentes estados de exposición, 6 de los 7 FAEEs medidos fueron significativamente diferentes entre los consumidores y abstemios (21). Otro estudio encontró que la incidencia de éster etílico linoleico en meconio fue significativamente mayor en los grupos expuestos al alcohol de los grupos control y que los niños expuestos sólo a alcohol, se encontraron en el grupo con la mayor concentración de éster etílico linoleico. Aunque la sensibilidad del éster etílico linoleico en la detección de la exposición prenatal al alcohol fue de 26,9 %, la especificidad y el valor predictivo positivo fueron del 96,8 y el 96,2 %, respectivamente (22). También se encontró cierta

evidencia de que los niveles de araquidonato de etilo fueron significativamente mayores en los grupos expuestos que los grupos controles. Los resultados de estos estudios generaron cierto debate, si en meconio debería hacerse la prueba de todas las especies de FAEEs o una especie en particular. Las observaciones que el éster etílico linoleico fue el marcador más sensible y específico en algunas poblaciones, mientras que el éster etílico oleico en otros, sugirieron que la especie de FAEE más prevalente en meconio pueden diferir entre la población y los grupos étnicos, como resultado de las variaciones genéticas en las enzimas FAEE sintetasas o la cantidad ácidos grasos específicos en diferentes dietas. (17, 23, 24). Por lo tanto, el uso de la suma acumulativa de varias especies de FAEEs en meconio, tal como se emplea en otros grupos, puede ser más fiable, ya que proporciona cierta redundancia para la variabilidad en los perfiles de ácidos grasos entre las poblaciones y los individuos. De los estudios anteriores se hizo evidente que bajas concentraciones de FAEEs se encuentran en el meconio de los lactantes sin exposición prenatal al alcohol, probablemente debido a la producción de etanol endógeno en el intestino y / o debido a las pequeñas cantidades de alcohol que también pueden estar presentes en ciertos medicamentos y aditivos alimentarios (25). Un estudio midió la concentración de FAEEs en meconio de 183 bebés nacidos de mujeres que no consumieron alcohol (25). Los niveles de FAEEs en meconio en dicha población se compararon con las concentraciones de FAEEs en meconio de bebés nacidos de 6 consumidoras de alcohol. Encontraron una diferencia promedio de 5 veces entre las concentraciones medias totales de FAEEs entre los grupos de consumo excesivo de alcohol en comparación con los abstemios y bebedores sociales. También observaron que el grupo de consumo social era indistinguible del grupo no consumidor. Los siguientes FAEEs (E16:0, E18:0, E18:2, E18:3, E20:4) se han sugerido como biomarcadores de meconio (26, 27). La suma de estos FAEEs con un punto de corte de 2 nmol/g o 50 ng/g de meconio se recomendó como prueba de screening para el consumo de alcohol con una sensibilidad del 100 % y una especificidad del 98,4 % usando la suma al menos de cuatro FAEEs individuales (palmitato de etilo, estearato, oleato y linoleato) para la detección de consumo excesivo de alcohol (25, 28).

## Conclusiones:

El diagnóstico de exposición prenatal a etanol en un recién nacido no es sencillo y requiere de varios factores que permitan la alta sospecha diagnóstica por parte del profesional médico. Son numerosos los estudios que confirman la acción tóxica y teratogénica del alcohol en el feto y la gestante. Hoy se recomienda que durante el transcurso del embarazo, abstenerse al consumo de alcohol, ya que no existe un umbral seguro para evitar los efectos nocivos del consumo del mismo. Debido a los subregistros obtenidos a través de los autoreportes maternos, en la identificación de la gestante consumidora de etanol, utilizado en los comienzos con fines diagnósticos, se han investigado muchos biomarcadores biológicos para ser utilizados con tal fin. De todos los biomarcadores investigados, resaltamos la utilidad de la medición de los FAEEs en meconio. La medición de los FAEEs en el diagnóstico de exposición prenatal a drogas tiene como ventaja (con respecto a otros biomarcadores) en presentar una larga vida media (mayor ventana diagnóstica) y además es sintetizado a nivel fetal luego de la exposición a distintas concentraciones de etanol, haciéndolo aún más específico. Son varios los FAEEs estudiados como posibles candidatos para su uso en el screening neonatal al consumo de etanol, observándose que puede obtenerse una mayor especificidad y sensibilidad midiendo la sumatoria de 4 o más de estos marcadores en conjunto. El valor de corte utilizado de los FAEEs en meconio es de 2 nmol/g de meconio o 50 ng/g de meconio. Muchas de las estadísticas internacionales confirman que existe una incidencia en promedio de 1 a 10 casos por cada 1000 nacidos vivos de SAF. Las variaciones observadas en la incidencia de este síndrome varían en

función del tipo de población estudiada. En los casos más graves se han reportado una incidencia de hasta casi un 9%. Muchas de estos estudios estiman el grado de incidencia de los TEAF, ya que los casos observados son tan solo un subregistro de los casos reales ocurridos. En nuestro país, no existen estudios epidemiológicos actualizados del grado de incidencia del TEAF. La dificultad diagnóstica en la identificación de estos pacientes, resalta la importancia de la aplicación del uso de metodologías confiables para poder identificar a aquellos neonatos expuestos gestacionalmente a etanol (y a otros tóxicos). La posibilidad de poder brindar al profesional médico una herramienta diagnóstica específica, permitirá poder identificar a aquellos neonatos expuestos a etanol (que por los métodos clínicos convencionales no se podrían identificar) y así aplicar los tratamientos adecuados para evitar los futuros riesgos y discapacidades en materia de salud en esta población vulnerable. Los trastornos del espectro alcohólico fetal tanto como el síndrome alcohólico fetal representan una de las mayores causas prevenibles de retraso del desarrollo neurológico en neonatos, en los cuales no solo reviste la importancia en materia de salud, sino que también tienen un alto impacto desde el plano económico y social. Políticas desde salud pública serán necesarias para comenzar a trabajar con mayor énfasis en nuestro medio, desde las campañas de educación y prevención del consumo de alcohol en la gestante y el resto de la población, concientizar al equipo profesional de la salud en la búsqueda diagnóstica de posibles casos de exposición prenatal a alcohol y/o drogas, y profundizar el abordaje multidisciplinario profesional en el tratamiento y evolución de los pacientes afectados por esta problemática.

#### Bibliografía:

- 1.- Evrard S. G. (2010). Criterios diagnósticos del síndrome alcohólico fetal y los trastornos del espectro del alcoholismo fetal. *Archivos Argentinos de Pediatría* 108;(1):61-67.
- 2.- Chudley AE, Conry J, Cook JL, Looock C, Rosales T, and LeBlanc N. (2005). Fetal alcohol spectrum disorder: Canadian guidelines for diagnosis. *CMAJ* 172: S1-S21.
- 3.- Goodlett, Ch.; Horn, K. (2001). Mechanisms of alcohol induce damage to the developing nervous system. *Alcohol research and health*, Vol 5, N° 3.
- 4.- Committee on Substance Abuse and Committee on Children With Disabilities. (2000). Fetal Alcohol Syndrome and Alcohol-Related Neurodevelopmental Disorders. *Pediatrics*. August, Vol 6, N° 2.
- 5.- Bearer, C.; Stoler, J.M.; Cook, J.D.; Carpenter, S.J. (2004/2005). Biomarkers of alcohol use in pregnancy. *Alcohol research and health*, Vol 28, N° 1.
- 6.- O'Leary CM. (2004). Fetal alcohol syndrome: diagnosis, epidemiology, and developmental outcomes. *J Paediatr Child Heal* 40: 2-7.
- 7.- Stratton K, Howe C, Battaglia F, and eds. (1996). Fetal Alcohol Syndrome: Diagnosis, Epidemiology, Prevention, and Treatment (Washington, DC: National Academy Press).
- 8.- Astley SJ and Clarren SK. (2000). Diagnosing the full spectrum of fetal alcohol-exposed individuals: introducing the 4-digit diagnostic code. *Alcohol Alcohol* 35: 400-410.
- 9.- Riley EP, and McGee CL. (2005). Fetal alcohol spectrum disorders: an overview with emphasis on changes in brain and behavior. *Exp Biol Med* 230: 357-365.
- 10.- Clarren SK, and Lutke J. (2008). Building clinical capacity for fetal alcohol spectrum disorder diagnoses in western and northern Canada. *Can J Clin Pharmacol* 15: e223-e237.
- 11.- Abel EL. (1995). An update on incidence of FAS: FAS is not an equal opportunity birth defect. *Neurotoxicol Teratol* 17: 437-443.



- 12.- Clarren SK, Randels SP, Sanderson M, and Fineman RM. (2001). Screening for fetal alcohol syndrome in primary schools: a feasibility study. *Teratology* 63: 3–10.
- 13.- Laposata M. (1998). Fatty acid ethyl esters: ethanol metabolites which mediate ethanol-induced organ damage and serve as markers of ethanol intake. *Prog Lipid Res* 37: 307–316.
- 14.- Laposata EA, and Lange LG. (1986). Presence of nonoxidative ethanol metabolism in human organs commonly damaged by ethanol abuse. *Science* 231: 497–499.
- 15.- Littner Y, Cudd TA, O’Riordan MA, Cwik A, and Bearer CF. (2008). Elevated fatty acid ethyl esters in meconium of sheep fetuses exposed in utero to ethanol - A new animal model. *Pediatr Res* 63: 164–168.
- 16.- Brien JF, Chan D, Green C, Iqbal U, Gareri J, Kobus SM, McLaughlin BE, Klein J, Rao C, Reynolds JN, et al. (2006). Chronic prenatal ethanol exposure and increased concentration of fatty acid ethyl esters in meconium of term fetal Guinea pig. *Ther Drug Monit* 28: 345–350.
- 17.- Chan D, Knie B, Boskovic R, and Koren G. (2004b). Placental handling of fatty acid ethyl esters: perfusion and subcellular studies. *J Pharmacol Exp Ther* 310: 75–82.
- 18.- Chan D, Klein J, Karaskov T, and Koren G. (2004c). Fetal exposure to alcohol as evidenced by fatty acid ethyl esters in meconium in the absence of maternal drinking history in pregnancy. *Ther Drug Monit* 26: 474–481.
- 19.- Klein J, Karaskov T, and Koren G. (1999). Fatty acid ethyl esters: A novel biologic marker for heavy in utero ethanol exposure: A case report. *Ther Drug Monit* 21: 644–646.
- 20.- Hungund BL, and Gokhale VS. (1994). Reduction of fatty acid ethyl ester accumulation by ganglioside GM1 in rat fetus exposed to ethanol. *Biochem Pharmacol* 48: 2103–2108.
- 21.- Bearer CF, Santiago LM, O’Riordan MA, Buck K, Lee SC, and Singer LT. (2005). Fatty Acid ethyl esters: quantitative biomarkers for maternal alcohol consumption. *J Pediatr* 146: 824–830.
- 22.- Ostrea EM Jr, Hernandez JD, Bielawski DM, Kan JM, Leonardo GM, Abela MB, Church MW, Hannigan JH, Janisse JJ, Ager JW, et al. (2006). Fatty acid ethyl esters in meconium: are they biomarkers of fetal alcohol exposure and effect? *Alcohol Clin Exp Res* 30: 1152–1159.
- 23.- Moore C, Jones J, Lewis D, and Buchi K. (2003). Prevalence of fatty acid ethyl esters in meconium specimens. *Clin Chem* 49: 133–136.
- 24.- Noland JS, Singer LT, Arendt RE, Minnes S, Short EJ, and Bearer CF. (2003). Executive functioning in preschool-age children prenatally exposed to alcohol, cocaine, and marijuana. *Alcohol Clin Exp Res* 27: 647–656.
- 25.- Chan D, Bar-Oz B, Pellerin B, Paciorek C, Klein J, Kapur B, Farine D, and Koren G. (2003). Population baseline of meconium fatty acid ethyl esters among infants of nondrinking women in Jerusalem and Toronto. *Ther Drug Monit* 25: 271–278.
- 26.- Bearer CF, Lee S, Salvator AE, Minnes S, Swick A, Yamashita T, Singer LT. (1999). Ethyl linoleate in meconium: a biomarker for prenatal ethanol exposure. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 23 487–493.
- 27.- Ostrea EM, Hernandez JD, Bielawski DM, Kan JM, Leonardo GM, Abela MB, Church MW, Hannigan JH, Janisse JJ, Ager JW, Sokol RJ. (2006). Fatty acid ethyl esters in meconium: are they biomarkers of fetal alcohol exposure and effect? *Alcohol Clin. Exp. Res.* 30 1152–1159.
- 28.- Bakdash A, Burger P, Goecke TW, Fasching PA, Reulbach U, Bleich S, Hastedt M, Rothe M, Beckmann MW, Pragst F, Kornhuber J. (2011). Quantification of fatty acid ethyl esters (FAEE) and ethyl glucuronide (EtG) in meconium from newborns for detection of alcohol abuse in a maternal health evaluation study. *Anal. Bioanal. Chem.* 396 2469–2477.