



ETANOL ANALİZİ

Dr. Öğr. Üy. Aliye ÇELİKKOL
Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi
Tıbbi Biyokimya A.D.

2019 TKB0

1

Sunum planı

- Alkol tarihçesi ve etkileri
- Alkol metabolizması
- Alkol kullanım göstergeleri
- Etanol analiz yöntemleri
- Kanda etanol analizinde önemli noktalar

WARNING

When you drink Vodka over ice, it can give you kidney failure.
When you drink Rum over ice, it can give you liver failure.
When you drink Whisky over ice, it can give you heart problems.
When you drink Gin over ice, it can give you brain problems.
Apparently, ice is really bad for you;
warn all your friends!!!



2019 TKB0

2

Alkol tarihçesi



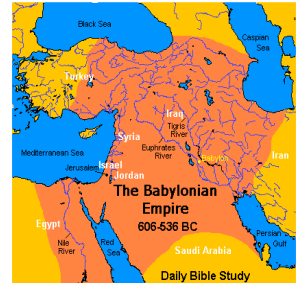
- Bilinen en eski kanıtlar MÖ 10.000
- Çin'in Jiahu neolitik kentinde bulunan testilerde kalan tortular içlerinde alkol bulunduğunu kanıtlıyor.
- Söz konusu tortular, fermente edilmiş üzüm, alıç, bal ve pirinçle yapılan içkilerin varlığına işaret ediyor.

Hammaddenin kaynağına göre tarihlendirme	Alma ağacı, meyve, tahıl, bal	Alma ağacı, meyve, tahıl, bal	Alma ağacı, meyve, tahıl, bal	Alma ağacı, meyve, tahıl, bal	Alma ağacı, meyve, tahıl, bal	Alma ağacı, meyve, tahıl, bal	Alma ağacı, meyve, tahıl, bal	Alma ağacı, meyve, tahıl, bal	Alma ağacı, meyve, tahıl, bal	Alma ağacı, meyve, tahıl, bal	Alma ağacı, meyve, tahıl, bal
200000	8000	7000	6000	5000	4000	3000	2000	1000	0	1000	2000

2019 TKB0

3

- Bilinen yazılı kaynaklara göre
- M.Ö. 4200 yıllarında **Mezopotamya'da** alkol fermantasyonunun bulunduğu,
- M.Ö. 2800 yıllarında **Babil'** de ve **Mısır piramitlerinde** bira üretiminin bulunduğu gösterilmiştir.



2019 TKB0

4

Alkol gerçekleri



- Her yıl 3,5 milyon insan alkole bağlı nedenlerden dolayı hayatını kaybetmektedir.
- Alkol tüm dünyada önlenabilir ölüm ve yaralanmaların üçüncü temel nedenidir.
- Eğitimde başarısızlık, suç eğilimi, alkole bağlı sağlık problemleri alkol kullanımıyla doğru orantılı olarak artar.

Global status report on alcohol and health 2018

2019 TKB0



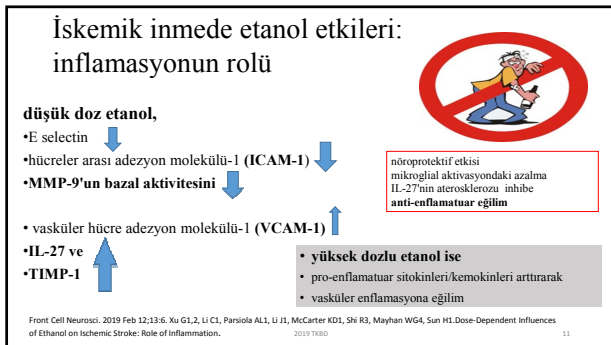
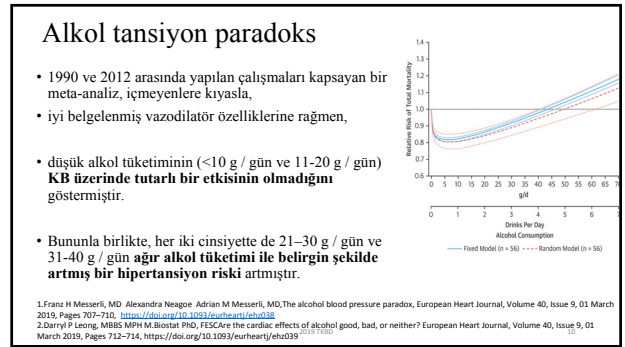
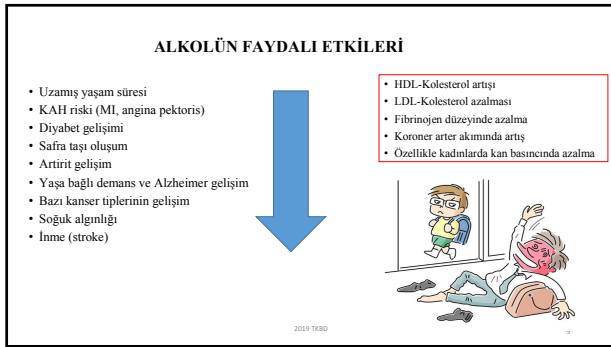
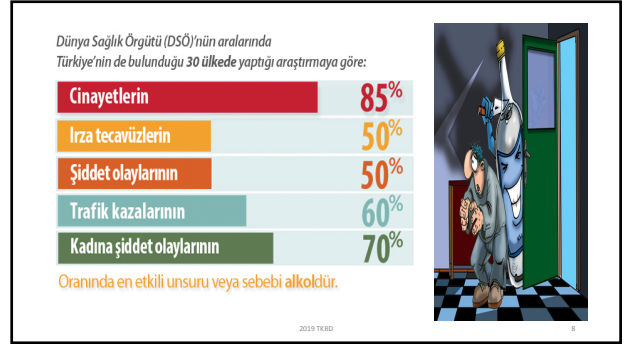
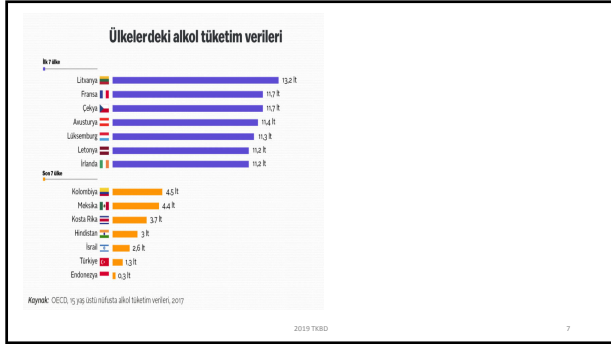
5

Alkolden doğan maddi zarar alkolden elde edilen gelirden çok daha fazladır.



2019 TKB0

6



ABD de alkol gerçekleri daha tehlikeli

- ABD de alkolli sürücü kazalarında her gün 29 kişi ölüyor.
- Ulusal Bilim, Mühendislik ve Tıp Akademileri yasal kan alkol konsantrasyonunu (BAC) sınırını 0,08'den 0,05'e düşürmek için eyalet yasalarında değişiklik yapılmasını önermektedir.

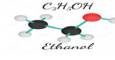


Am J Public Health. 2019 Feb 21:e1-e5. doi: 10.2105/AJPH.2018.304908. Ethical Acceptability of Reducing the Legal Blood Alcohol Concentration Limit to 0.05. Morain S, Largent E.

2019 TKB0

13

ETANOL

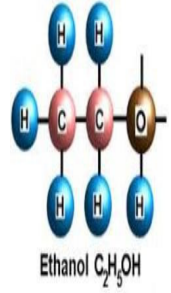


- Etil alkol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) düşük molekül ağırlıklı (MA:46),
- Suyla her oranda karışabilen ve
- yüksüz bir madde olduğundan
- Biyolojik membranları kolayca geçebilmektedir.

- Alkolün emilimi
- %20-25 mide, %75-80 ince barsaklar,

- Alkol, alındıktan sonra, birkaç dakika içerisinde kanda belirmeye başlar ve bütün vücut sıvılarına dağılır.
- 30-60 dakikada pik düzey

- Kan-beyin bariyerini kolayca aşarak, merkezi sinir sistemi üzerinde de etkili olur.



2019 TKB0

14

ALKOL EMİLİMİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER

- Alınan Etanol konsantrasyonu
- Eş zamanlı gıda alımı
- Mide boşalma hızı
- Mide ve duodenum kan perfüzyonu
- Vücut ısı
- İlaç alımı (ranitidin, simetidin)
- Sigara içilmesi



Levent Kırca'ya saygı ile.

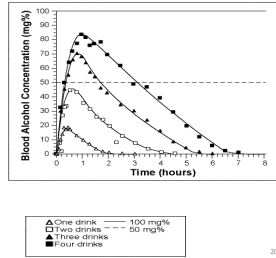
2019 TKB0

15

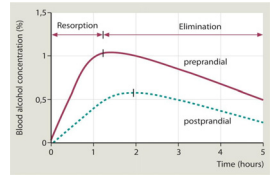
ALKOLÜN DAĞILIMINI ETKİLEYEN FAKTÖRLER

- Yaş ve cinsiyet
- Vücut ağırlığı-ısı
- ADH ve ALDH genetiği
- Yenilen gıda miktarı-çeşidi/ midenin doluluk oranı
- Alkol alışkanlığı
- İçilen alkol miktarı
- İçilen iki içki arasındaki zaman
- Fiziksel durum
- Eş zamanlı kullanılan diğer ilaçlar
- Sistemik dolaşım/ karaciğer kan akımı-karaciğer kütlesi
- İdrar çıkışı
- Gastrik ilk geçiş metabolizması

ALINAN ALKOL MİKTARI İLE KAN ALKOL DÜZEYİ ARASINDAKİ İLİŞKİ



AÇLIK VE TOKLUK DURUMUNDA ALKOL EMİLİMİ



Alkol emilimi boş midede 45 dk da, dolu midede 2 s içinde olur.

2019 TKB0

16

ETANOL DAĞILIM KATSAYILARI

Widmark faktörü:

İsim Kan	1,00
Plazma/Serum	1,14-1,16
Tükürük	1,12
Yağ dokusu	0,019
Tüm vücut/Erkek	0,68
Tüm vücut/Kadın	0,55
İdrar	1,35
Beyin	1,17
BOS	1,1
Karaciğer	0,91
Böbrek	0,7
Nefes	1/2100=0,000476

Etanol plazma proteinlerine bağlanmadan total vücut suyunda dağılır.

Kadınların erkeklerle oranları:

Vücut ağırlıkları daha düşük, Yağ oranları daha fazladır. Dolayısıyla alkolün dağılılabileceği su hacmi kadınlarda daha azdır. Bu nedenle aynı miktarda alkol alan kadınlarda kan-alkol konsantrasyonu erkeklerle oranla daha yüksek olur. Genel olarak erkeklerin vücut ağırlığının %68'i, kadınlarda %55'i alkol dağılımı için kullanılır.

Vücuttan kan alkol eliminasyon hızı Ortalama 15 mg/dL/saat (10 - 30 mg/dL/saat) azalır.

Lorale Langman, Laura Rehm, Christopher P Holmberg. Clinical Toxicology page: 1109-1188 in Tietz: Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, Elsevier, St Louis Missouri. Fifth Edn. Burtis C, Ashwood ER, Bruns DE. 2012.

2019 TKB0

17

Etanol Metabolizması ve Metabolizmaya Etki Eden Faktörler



- % 90'ı karaciğerde metabolize olur.
- % 5'i değişmeden solunumla,
- % 5'i ise değişmeden idrarla atılır.

Alkolün ana yıkım yolu, alkol dehidrogenaz (ADH) ve aldehit dehidrogenaz (ALDH) enzimleri tarafından katalizlenir.

2019 TKB0

18

- **Asetaldehit (AcCHO),**
- toksik ve kansinojen bir moleküldür ve ALDH enzimi ile daha az aktif olan asetata dönüştürülür.
- Oluşan asetat, asetil-CoA üzerinden Krebs siklusuna girerek su ve karbondioksit kadar parçalanabilir.
- Bu ana yolun dışında, büyük miktarlarda alkol alındığında devreye giren ve kronik alkol tüketimiyle induklene (MEOS)
- **sitokrom P450 2E1 (CYP2E1)**
- **katalaz** enzimi de alkolü asetaldehite çevirebilir.
- Peroksizomal katalaz yolunun karaciğerden ziyade beyin dokusunda önemli olduğu düşünülmektedir.

2019 TKB0 29

- **Alkol metabolizması sonucunda**
- **NADH/NAD+ oranı artar.**
- karaciğer hücre içinde aşırı NADH birikimi hücreye yalancı bir "enerjiye ihtiyacı yok" sinyali oluşturur. Bu da glikojenden glukoz oluşumunu azaltarak **hipoglisemi** gelişmesine sebep olur.
- CYP2E1 aktivitesi ve mitokondride asetaldehit metabolizması esnasında,
- **reaktif oksijen türleri (ROS) de** meydana gelir.

2019 TKB0 30

Alkol-ilaç etkileşimlerinde CYP2E1 sisteminin rolü:

- Aktif içicilerde çeşitli ilaçlara karşı artan hassasiyet oluşur.
- Alkol ve çeşitli ilaçlar birlikte alındığında CYP2E1 için yarışır.
- **Aktif içicilerde, yüksek doz oluşumuna dikkat edilmelidir.**
- Birlikte alınan ilaçların yarılanma ömrü uzar. (enzim inhibisyonu !)
- barbitürat, benzodiazepinler, antihistaminikler, fenotiyazinler !!!

2019 TKB0 31

SIRT1(Sirtuin)

- Egzersiz, açlık, kalori kısıtlaması gibi enerji/besin stresi yaratan durumlarda,
- NAD+ seviyeleri yükselir ve
- SIRT1 aktivitesini artırır
- Mitokondriyal yağ asidi oksidasyonunu artırır.
- Kolesterolün safra asitlerine dönüşümünü uyarır.
- Yağ depolarının mobilizasyonunu sağlar.

2019 TKB0 32

Kronik alkol alımının uzun dönem etkisi, yağ asidi birikimine bağlı olarak ortaya çıkan karaciğer yağlanmasıdır

2019 TKB0 33

Alkol;

- **miR-212** ekspresyonunu artırarak
- **Zonula okludens 1 (ZO-1)** proteininin seviyelerini azaltarak
- **bağırsak geçirgenliğini artırır.**
- **endotoksinlerin dolaşıma geçmesine** ve
- **karaciğer hasarına** yol açabilir.
- (ZO-1 proteini sıkı bağlantı proteini)

2019 TKB0 34

Alkol Biyomarkerlarının Kullanımı

Alkol kullanımının klinik ve adli amaçlarla belirlenmesinde sadece etanol ölçümü yeterli olmadığında birkaç gösterge birleştirilerek kullanılmaktadır.

Parfümler ve tıraş losyonları %60-95
El temizleyicileri %65
Yemek esansları %35
Ağız yıkama solüsyonları %10-35

- Alkol bağımlılığı belirlenmesi

- Alkol kullanımı ilgili tıbbi bir sorun

- Alkol rehabilitasyonu uygulanan hastaların izlenmesi ve yeniden herhangi bir alkol kullanımının belirlenmesi

- İçki kullanıldığını belgelemek amacıyla



2019 TBSD

25

AKUT ALKOL ALIMINDAKİ TESTLER

İDRAR ALKOLÜ

- Enzimatik ve Gaz kromatografisi
- Üriner enfeksiyonlarda invitro alkol oluşur.
- Alkol alımından sonraki ilk 90 dakikanın haricinde
- idrarda etanol konsantrasyonu serumdan daha yüksek,
- emilim safhasında ise plazma seviyesi idrardakine göre daha fazladır.
- **Etanolün idrarda belirmesi sadece 10 dk. alır.** Bu yüzden iki sıvı arasındaki oran olayların zamanı hakkında fikir verir.
- Aynı zamanda kan alkol sonuçlarını doğrulamak için kullanılabilir.

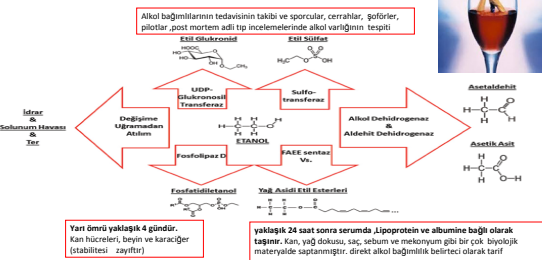


2019 TBSD

26

AKUT ALKOL ALIMINDAKİ TESTLER

Etanolün Metabolik Yolları



Mehmet Ağardır ark, vücut sıvılarında antemortem ve postmortem etanol düzeyinin belirlenmesinde biyobelirteçler, Journal of forensic medicine, 2016;30(2):153-161

AKUT ALKOL ALIMINDAKİ TESTLER

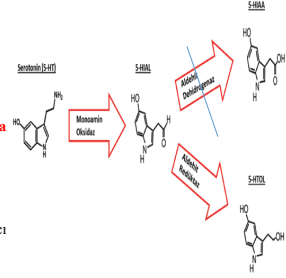
5- HTOL ve 5-HIAA

- Alkol serotonin metabolizmasında
- **ALDH inhibisyonuna** sebep olur,
- **5OH triptofol artar.**

- **Alkolün atılımından 5-15 saat sonra ya da idrarda seviyesi artmış bulunur.**

- **5HTOL/5HIAA oranı >15**

- (Serotonin içeren gıdalar nedeniyle yanlış pozitif olmaması için)



Mehmet Ağardır ark, vücut sıvılarında antemortem ve postmortem etanol düzeyinin belirlenmesinde biyobelirteçler, Journal of forensic medicine, 2016;30(2):153-161

KRONİK ALKOL KULLANIMINDA TESTLER

GGT

- Kronik alkol tüketimi için en fazla kullanılan belirteç.
- Ağır alkol kullanımı durumunda GGT **10 kat** yükselir.
- Alkol kullanımının kesildikten 2-6 hafta sonra normal düzeye gelir.

Ayırıcı tanıları dikkat edilmelidir.
Akut pankreatit, Miyotonik msküler distrofi
Guillain-Barre sendromu, Porfiri kutanea tarda,
Nörolojik hastalıklar, Malign hastalıklar / radyoterapi



2019 TBSD

29

KRONİK ALKOL KULLANIMINDA TESTLER

CARBOHYDRATE-DEFICIENT TRANSFERRIN (CDT)

- **Bir hafta önceki ağır alkol kullanımını belirlemeyi sağlar.**
- Minor transferin varyantları olup, düşük derecede glikozilasyonu olan; asialo, monosialo ve disialotransferrindir.
- Elektroforetik, kromatografik, immunolojik yöntemler ve MS ile ölçülmektedir.

- **Yarılma ömrü yaklaşık olarak 15 gündür, 1,5-2 hafta yüksek** kalmaktadır.

- Anoreksia nervosa ve gebelikte

- Tanı için HPLC (gold standart), Kapiller Jel EF ve immün yöntemleri onaylanmaktadır.

- Gebelerde, OKS ve sigara kullananlarda, obezler, hipertansif hastalarda, Fe eksikliği anemisinde hatalı yüksek sonuç alınır



2019 TBSD

30

BETA-HEKZOZAMİNİDAZ (b-HEX)

- İdrar ve serumda oldukça sensitif bir biyobelirteçtir
- **Yarı ömrü 6,5 gündür.**
- Hipertansif, diyabetik, siroz, MI, gebe ve OKS kullananlarda artar.

MCV

- Etanolün direkt, asetaldehitin hematotoksik etkisi ile artar.
- Alkol alımının kesilmesini takiben
- 2-4 ayda normale döner.



2019 TKBD

31

BESİNSEL BELİRTEÇLER

- Prealbumin, albumin düşüklüğü
- Antijenik stimulyasyon kaynaklı IgA, IgG, IgM yüksekliliği
- Serum protein elektroforezinde beta köprüsünün varlığı



2019 TKBD

32

Kan Etanol Düzeyi Ölçüm Yöntemleri

Gaz Kromatografisi

- Alkoller ve glikollerin analizleri için **altın standart** yöntem
- Göreceli olarak pahalı
- Kullanımı özel eğitim gerektirmekte

Enzimatik

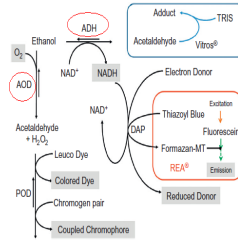
- **Alkol Dehidrogenaz (ADH)**
 - Stabilitesi iyi
 - Spektrofotometrik olarak NADH tespiti
- **Alkol Oksidaz (AOH)**
 - Hasta-başı yöntemler
 - Oksijen tüketimi ve peroksit oluşumu prensibi



2019 TKBD

33

ENZİMATİK ANALİZ YÖNTEMLERİNİN PRENSİPLERİ



- Analizler arasındaki farkların nedenleri**
- ADH kaynağı
 - Substrat, kofaktör, enzim konsantrasyonları
 - NAD kaynağı
 - NAD veya NAD analogları kullanımı
 - Numune ve reaktif hacimleri, inkubasyon ve kör
 - Dalga boyları
 - Analiz süreleri
 - Analiz modu (end point/kinetik)

2019 TKBD

34

ENZİMATİK YÖNTEMLERİN AVANTAJ& DEZAVANTAJLARI

AVANTAJ

- Otomatize
- Hızlı
- Yaygın kullanım
- Adli makamlarca kabul edilir

DEZAVANTAJ

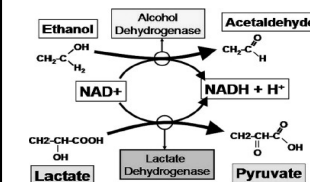
- İnvaziv
- Tıbbi laboratuvara gereksinim
- Akut alkol kullanımını gösterir
- **Çapraz reaksiyon**
 - ✓ Laktat ve LDH
 - ✓ İzopropanol, etilen glikol ve metanol (toksik alkoliler)



2019 TKBD

35

ENZİMATİK ÖLÇÜME LAKTAT-LDH İNTERFERANSI



ETANOLÜN ENZİMATİK ÖLÇÜMÜ

RH Powers, Dean DE. Evaluation of potential lactate/lactate dehydrogenase with an enzymatic alcohol analysis. J Anal. Toxicol 2009;33:561-3

2019 TKBD

36

HEMOLİTİK

- Megaloblastik anemi
- G6PD eksikliği
- Hemoglobinopati
- Ototimmün
- Fiziksel yıkım (yanık ve prostatik kappak)
- Kan alımında sorun

KANSER

- Lösemi
- Lenfoma
- Testiküler kanser
- Tümör lizis sendromu

BÖBREK HASTALIKLARI

- Akut böbrek yetmezliği
- Kronik böbrek yetmezliği
- Rabdomyolizis

POST MORTEM ÖRNEKLER

- Hemoliz
- Laktatli riger

ENFEKSİYONLAR

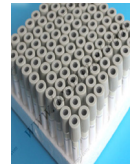
- Malaria
- Enfeksiyöz mononükleoz
- Hepatit
- İnfluenza

KAS HASTALIKLARI

- Metabolik (glikojen depo hastalıkları)
- Yapısal (Musküler distrofi)

DOKU TRAVMA

- MI
- Stroke
- İntestinal-pulmoner infarkt
- Pankreatitis
- Alkolik hepatit
- Kr. Karaciğer hastalıkları
- Rabdomiyolizis-crush



ADLİ TIP KURUMU

ADLİ TIP KURUMU ALKOL BİRİMİ KAN ÖRNEĞİ KABUL KOŞULLARI

Canlı kişilerden alkol incelemesi için kan alınırken, olayı müteakip en geç 2 saat içinde gri kapaklı, (6 mg. NaF ve Na2EDTA 12 mg. 4ml'lik tüpler için) iki adet tüpe kan alınmasına dikkat edilmelidir.

2019 TKBİD 43

ADLİ TIP KURUMU ALKOL BİRİMİ KAN ÖRNEĞİ KABUL KOŞULLARI

(Lütfen numune alımı ve laboratuara gönderim sırasında aşağıdaki hususların MUTLAKA sağlanması gerektiğini, aksi takdirde alınan numunenin ret edileceğini ve **örneğin çalışılmamasından doğan yasal sorumluluğun numuneyi alan kişiye ait olacağını UNUTMAYINIZ)**

1) Kan alınacak bölgenin çevresi, alkol (etanol, metanol ve izopropanol...) İÇERMEYEN dezenfektanlarla temizlenmeli ve steril kuru gazlı bez ile kurulmalıdır.

2) **Mutlaka üç (3) tüp kan alınmalı (en az 2'er ml); iki(2) tanesi analiz için Adli Tıp Kurumuna gönderilecek, bir(1) tanesi kanı ALAN KURUMDA şahit numune olarak raporumuz ilgili Cumhuriyet Savcılığına ulaşına dek saklanmalıdır.**

3) Kan vacutainer ile alınacak ise mutlaka gri kapaklı, (6 mg. NaF ve Na2EDTA 12 mg. 4ml'lik tüpler için) içeren tüplere alınmalıdır.

4) Kan eğer enjektör ile alınacak ise, pH'taşmadan hemen gri kapaklı, NaF (sodyum florür) ve Na2EDTA içeren tüpe aktarılmalıdır.

5) Tüp ağzı kesinlikle açılmamalıdır.

6) Tüp yavaşça 5-6 kez alt üst ederek karıştırılmalıdır.

7) Tüp üzerinde mutlaka; Hastanın Adı-Soyadı, Kanın alındığı hastane Kanın alındığı tarih ve saatin yazılı olan etiket/barkod yapıştırılmalıdır.

2019 TKBİD 44

8) Kurye aracılığıyla gönderilen kan örnekleri 24 saat içinde Adli Tıp Kurumuna teslim edilmelidir.

9) Posta aracılığı ile gönderilen kan örnekleri alındıkları tarihten itibaren 24 saat içinde postaya verilmelidir.

10) Taşıma sırasında örneklerin zarar görmemesi/bozulmaması için uygun bir kap veya koli içerisinde buz kalıpları/aküleri arasında olmalıdır.

11) Alındığı gün içinde Adli Tıp Kurumuna teslim edilemeyen kan tüpleri mutlaka +4 C deki buzdolabında saklanmalıdır.

12) Mutlaka "KAN ALMA TUTANAĞI" eksiksiz doldurulmalıdır.

NUMUNE RET KRİTERLERİ

1) Numunenin etiketlenmemesi yada yanlış veya eksik etiketlenmiş olması,

2) 4ml'den az miktarda numune gönderilmesi,

3) Koruyucusuz veya uygun olmayan koruyucularla (NaF (sodyum florür) ve Na2EDTA içermeyen tüpe) örneklerin gönderilmesi,

4) Tek tüp kan gönderilmesi,

5) Yanlış taşıma nedeniyle örneklerin zarar görmüş olması (Tüplerin kırılıp, çatlaması veya örneklerin tüpün dışına sızması, soğuk zincire uygun gönderilmemesi)

6) Kan Alma Tutanağın OLMAMASI veya eksik olması.

Kan örneğinin kabul koşullarını sağlamaması nedeni ile reddedilen örneklerden YASAL olarak kanı alan ve teslim eden görevliler sorumludur.

2019 TKBİD 45

Alkollü Araç Kullanmanın Cezası

*Alkollü araç kullananlarda yasal sınır
*hususî araç sahipleri için 0,50 promil,
*ticari araç sahipleri için de 0,20 promil

*Yasaya göre, **1 promilin üzerinde alkol kullandığı tespit edilenler hakkında mahkeme tarafından dava açılır. Kazaya karışanlar TCK 179 maddeye göre yargılanır. 3aydan 2 yıla kadar hapis cezası ile cezalandırılır.**

***Alkolmetreye üfleme reddetme...halinde ise 2.869 TL bir ceza**

Yürürlükteki en ağır yaptırım trafik cezaları alkollü araç kullanma için verilmiştir.

	Ceza Tutarı (TL)	%25 İndirimli (TL)	Ceza Puanı	Ehliyet el koyma süresi	Diğer cezaları
1. Defa	1.002 TL	751,50 TL	20	6 ay	sürücü davranışları geliştirme eğitimine
2. Defa	1.256 TL	942 TL	20	2 yıl	
3 ve 3'ten Fazlasında	2.018 TL	1.513,50 TL	20	5 yıl	psiko-teknik testi

2019 TKBİD 46

2918 sayılı KARAYOLLARI TRAFİK KANUNU, Madde 48: Alkol, uyuturucu veya uyarıcı maddelerin etkisi altında araç sürme yasağı

K.T.K. 48/5 3.KEZ ALKOLLÜ ARAÇ KULLANMAK

Eski Uygulama
48/5 3.kez Geriye Doğru 5 yıl içerisinde alkollü araç kullanmak
Trafik Suç Tutanağı düzenlenerek Mülki Amire sevk edilmekteydi.

Yeni Uygulama
48/5 3.kez ve daha fazla kez (Geriye doğru 5 yıl içerisinde Alkollü araç kullanmak)
Mülki Amire sevk edilmek üzere Trafik Suç tutanağı düzenlenmeyecektir. Trafik İdari Para Cezası Karar Tutanağı düzenlenecektir.

48/5 maddesine istinaden 3.kez veya daha fazla kez den alkollü olarak araç kullanan sürücülere 1.513,50 TL Trafik İdari Para Cezası Karar düzenlenerek Sürücü belgesine 5 yıl süreliğine el konulacaktır.

Araç Sahibi farkı ise tescil plakasına ceza işlem uygulanacaktır.

2019 TKBİD 47

Damar Bölgesini Temizlemek İçin Kullanılan Alkol, Kafa Boşluğu Gaz Kromatografisi (HS-GC) Ve Enzimatik Tetkiklerde Kan Ve Plazma Alkol Ölçümünü Tehlikeye Atmaz .

İki Sağlıklı Kişiden İki Ardışık Prosedürle Venöz Kan Alındı.

*2 ml Alkollü Antiseptik (% 0.5 Klorheksidin, % 70 Etanol) Sağ Kol
*Aynı Alkollü Antiseptikten 2 ml, Sol kol Temizlendi

EDTA Plazma örneklerinde enzimatik ve EDTA plazması ve Tam Kanda GC Tekniği ile etanol tespit edilememiştir .

Kan almadan önce Etanol İçeren Antiseptiklerin Kullanılmasının, doğru uygulanabildiği zaman, Alkol Ölçümünde Yanlış Pozitif Sonuçlara Neden Olamayacağı

The alcohol used for cleansing the venipuncture site does not jeopardize blood and plasma alcohol measurement with head-space gas chromatography and an enzymatic assay. Giuseppe Lippi, Ana-Maria Simundic, Giacomo Musile, Elisa Danese, Gianluca Salagnoli, and Franco Taglienti, Biomedical (Zagreb). 2017 Jun 15; 27(2): 398-403.

2019 TKBİD 48

Postmortem in vivo/in vitro etanol üretimi Düşündüğümüzden daha yaygın olabilir!



•En sık rastlanan nedenler **mikrobiyal kontaminasyon ve glukoz fermentasyonudur**.

•ölüm sonrası BAC Değerlendirilmesi daima kapsamlı ve dikkatli yorumlanması gereklidir.

•ilk BAC'si 0.18 g/L olan, miyokard infarktüsü ile doğal ölümü olan 55 yaşındaki bir erkek olgudan alınan örnek üç gün sonra 0.85 g/L'ye hızla artıyor.

•in vitro etanol üretimi şüphesi ile Numunenin mikrobiyolojik incelenmesi
•**Escherichia coli** ve **Enterococcus faecalis**, **Candida parapsilosis** (etanol üreten maya)

Maria José Quintas, Pedro Costa, Paula Melo, André Castro, João Miguel Franco, Helena M. Teixeira, Postmortem in vitro ethanol production—it could be more common than we think, <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2016.12.040>

2018 YKBD

49

Tüp kapakları ve oda ısısı



- başlangıçtaki konsantrasyon ile kapatılmamış tüplerdeki konsantrasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark
- Alkol konsantrasyonu, oda sıcaklığında saklandığında, tüpün çıkarılmasından sonra iki saat içinde kapatılmamış numunelerde doğru bir şekilde ölçülebilir.
- **Kapatılmamış numunelerde daha uzun depolama süresi (> 2 saat), alkol konsantrasyonunda önemli farklar yaratır.**

Andrea Saracevic Ana-Maria Simundic Lora Dukic, The stability of ethanol in unstoppered tubes <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2013.11.006>

2018 YKBD

50

Uzun süre depolanan kan örneklerinde alkol stabilitesi

(13 ila 39 ay arasında değişen) depolama sonrası



- Açılmamış tüplerde ortalama 0.010 g/dL (10mg/dl) kayıp
- Daha önce açılmış tüplerde Ortalama 0.015 (15mg/dl) olan önemli bir kayıp gözlemlendi.

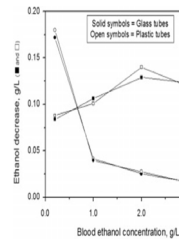
•Oda sıcaklığında altı aylık depolama, ortalama 0.014 g/dL düşüştü.

- 38 ° C'de 7 gün boyunca daha fazla depolama, BAC'de önemli bir değişikliğe neden olmadı.
- 38 ° C'de 28 gün boyunca depolanması, BAC'de istatistiksel analizle önemli kayba neden olmadı.

Xiaoqin Shan Nicholas B. Tiscione Ilene Alford Dustin Tate Yeatman : A study of blood alcohol stability in forensic antemortem blood samples <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2013.04.012>

51

4 ° C'de depolanma



Kandaki etanol konsantrasyonlarının, numunelerin 4 ° C'de 12 ay boyunca depolanması sırasında kademeli olarak azaldığını
Düşüş 14 - 28 günlük depolamadan sonra analitik öneme sahip oldu ve cam veya plastik tüplerde saklanan örnekler için aynıydı.

•4 ° C'de 12 ay saklanmasından sonra kan-etanol konsantrasyonundaki ortalama düşüş, ~ 0.11 g/L (11mg/dl)

tüplerin cam ya da plastikten olmasına bağlı değildi.

A.W. Jones, et al, Decreases in blood ethanol concentrations during storage at 4 ° C for 12 months were the same for specimens kept in glass or plastic tubes, *Practical Laboratory Medicine* 4 (2016) 76-81

2018 YKBD

52

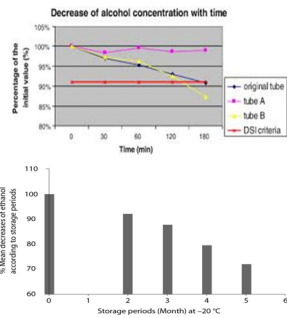
-20 ° C depolanma

Dumlupınar Üniversitesi Evliya Çelebi Araştırma ve Eğitim Hastanesinde yapıldı. (Kasım 2013- Nisan 2014)

Plazma etanol konsantrasyonlarında depolama süresine göre başlangıç konsantrasyonlarından ortalama düşüşler (%) ve CLIA'88'e göre TEAs (% ± 25) ile

Bu çalışmanın sonuçlarına göre, plazma etanol numuneleri

- 3-4 aya kadar -20 ° C'de saklanabilir,
- numunelerin sıkıca kapalı ve neredeyse tamamen doldurulmuş olan uygun numune tüplerinde tutulması sağlanmalı
- numunelerin üzerindeki hava miktarı en aza indirilmeli

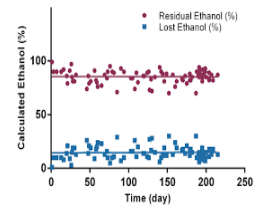


Emel Kocak F. et al, Ethanol stability in different storage periods, *Biochemia Medica* 2015;25(1):57-63

53

-80 ° C depolanma

Etanol analiz edilen kan örneklerinin hemen analiz yapılması ve kan örneklerinin analiz sonrası donmasının mümkün olan en kısa sürede gerçekleşmesi koşuluyla, aylarca -80 ° C'de saklanabileceği sonucuna vardık.



Serpil Erdogan et al, Optimal Storage Conditions for Blood Samples, for Later Analysis in Criminal Prosecution Proceedings, *J Immunol Clin Microbiol* 2018;3(4):60-67
1 Ataturk Training and Research Hospital, Department of Medical Biochemistry, Ankara, Turkey.
2 Yıldırım Beyazıt University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Ankara, Turkey.

54

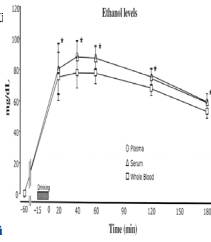
Plazma, Serum, Tam kan

5 yetişkin, 15 dakikalık bir süre boyunca standart bir alkolli içki (0.7 g/kg) tüketti ve içmenin başlamasından sonraki 3 saatlik bir süre içinde 5 kez kan örnekleri alındı.

plazma ve serum örneklerinde anlamlı derecede Tam kandan daha yüksek etanol konsantrasyonları

• Serumda ölçülen alkol düzeyleri tam kan ile yapılan ölçümlere göre **yaklaşık % 15-20 daha fazladır.**

• Serumda ölçülen alkol düzeyini tam kana çevirmek için ;
• **Serumda ölçülen alkol değeri, 1.18 (1.1 - 1.35)' e bölünü**



David M. Penetar et al. Comparison Among Plasma, Serum, and Whole Blood Ethanol Concentrations: Impact of Storage Conditions and Collection Tubes, Journal of Analytical Toxicology, Vol. 32, September 2008,505-510
*Lorale Langman, Laura Bechtel, Christopher P Holsteg. Clinical Toxicology page: 1109-1188 in Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, Elsevier, St Louis Missouri, Fifth Edn. Burtis C, Ashwood ER, Bruns BE 2012.

55



Alkolmetre
(Nefes alkol
testi) (BrAC)



Kan Alkol
düzeyi
(BAC)



Üç aylık bir süre zarfında, Finlandiya'da yakalanan sürücülerin yol kenarındaki nefesten alkol testlerinin sonuçları, venöz kan alkol konsantrasyonu (BAC) ile karşılaştırıldı.
•Örnekleme kanı ve nefes arasındaki ortalama (ortanca) süre 1 saat (0 ila 6 saat)

•**BrAC, BAC'dan yaklaşık % 15 düşüktür.**

•Yol kenarında alkolmetre cihazları, 0,50 g/kg yasal sınırın üzerindeki sürücülere ayırabilir.

Comparison of breath-alcohol screening test results with venous blood alcohol concentration in suspected drunken drivers, Pirkko Riihu et al. https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2014.03.019

2019 TKB0

56

Ölçüm belirsizliği çalışmaları



- GC-MS ile çalışılan kan alkol düzeylerinin hesaplanan ölçüm belirsizliğinde
- %95 güven aralığında
- Kan alkolü konsantrasyon yöntemi için nihai genişletilmiş belirsizlik, $U = \pm 4.8$ idi.

- Nordest kılavuzuna göre
- etanol testinin belirsizlik değeri %95 güven aralığında
- %14.2 olarak tespit edildi.
- hasta sonuçlarının (%98.24) belirsizlik değerinden etkilenmediği
- **Hastaların %1.76'sının belirsizlik değerinden etkilendiği görüldü.**

Rong-Jen Hwang, et al. Measurement of uncertainty for blood alcohol concentration by headspace gas chromatography, Canadian Society of Forensic Science Journal, 2017;50(3): 114-124

2019 TKB0

57

Son söz

- Genelde uygulanması istenen koşullara dikkat edilmesi kişilerin gereksiz zarar görmesini engelleyebilir.



2019 TKB0

58

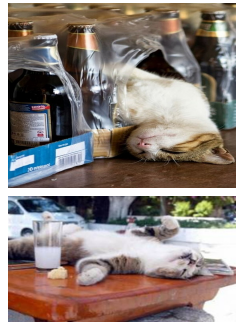
Kaynaklar

- Doç. Dr. Tuncay Küme (teşekkürlerimle)
- Doç. Dr. Turan Turhan (teşekkürlerimle)
- Tıbbi Laboratuvarlarda Doğru Sonuç, Dasgupta
- Klinik Toksikoloji Laboratuvarı
- Toksikoloji Ve Terapötik İlaç İzleminde Hatalı Sonuç Değerlendirmesi, Dasgupta



2019 TKB0

59



İlginiz için
TEŞEKKÜRLER

2019 TKB0

60