TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

UZUN DÖNEM BEKLETİLEN İDRAR ÖRNEKLERİNDE ETANOL, ETİL GLUKURONİD VE ETİL SÜLFAT DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ

Emine Firdevs YILDIRIM

DİSİPLİNLERARASI ADLİ BİLİMLER ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Aslıhan GÜRBÜZ BOLKAN

ANKARA
2024

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

UZUN DÖNEM BEKLETİLEN İDRAR ÖRNEKLERİNDE ETANOL, ETİL GLUKURONİD VE ETİL SÜLFAT DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ

Emine Firdevs YILDIRIM

DİSİPLİNLERARASI ADLİ BİLİMLER ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Aslıhan GÜRBÜZ BOLKAN
İKİNCİ DANIŞMAN
Prof. Dr. Mukaddes GÜRLER

ANKARA
2024

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum "Uzun Dönem Bekletilen İdrar Örneklerinde Etanol, Etil Glukuronid ve Etil Sülfat Düzeylerinin Belirlenmesi" başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Emine Firdevs YILDIRIM

Tarih:

İmza:

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Disiplinlerarası Adli Bilimler Anabilim Dalında
Emine Firdevs YILDIRIM tarafından hazırlanan
"Uzun Dönem Bekletilen İdrar Örneklerinde Etanol, Etil Glukuronid ve Etil Sülfat Düzeylerinin Belirlenmesi" adlı
tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ/OY ÇOKLUĞU ile kabul/ret edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 24/07/2024

Prof. Dr. Sinan SÜZEN
Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Nebile DAĞLIOĞLU
Ankara Üniversitesi
Raportör

Prof. Dr. Onur ERDEM
Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Üye

Prof. Dr. Aslıhan GÜRBÜZ BOLKAN
Ankara Üniversitesi
Üye

Doç. Dr. Sertaç AK
Hacettepe Üniversitesi
Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fügen AKTAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

Uzun Dönem Bekletilen İdrar Örneklerinde Etanol, Etil Glukuronid ve Etil Sülfat Düzeylerinin Belirlenmesi

Adli bilimlerin önemli konularından biri olan alkol tayini için kullanılan yöntemlerin geçerliliği ve güvenilirliği kadar analiz edilecek biyolojik örneğin stabilitesi de önem arz etmektedir. Alkol tüketimi küresel olarak artış gösterirken alkol kaynaklı sağlık sorunlarının yanı sıra alkol ile ilişkili adli olaylar da artmaktadır. Bu durum alkol tayinine olan ihtiyacın önümüzdeki yıllarda da devam edeceğini göstermektedir. Bu tez çalışması kapsamında 10 sağlıklı gönüllünün alkol tüketimi sonrası idrar örnekleri toplandı. Bir yıl boyunca -20ºC'de saklanan idrar örneklerinin stabilitesi için etanol, etil glukuronid (EtG) ve etil sülfat (EtS) düzeyleri farklı zamanlarda kromatografik yöntemlerle analiz edildi. Etanol, headspace gaz kromatografisi ile analiz edilirken, etil glukuronid ve etil sülfat analizlerinde sıvı kromatografi-kütle spektrometrisi/kütle spektrometrisi kullanıldı. -20ºC'de etanol'ün bir hafta, EtG'nin üç ay ve EtS'nin bir ay boyunca stabil olduğu tespit edildi. Bir yıl saklanan idrar örneklerinin EtG ve EtS seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı azaldığı ($p<0,001$) belirlendi. Ayrıca EtG ve EtS arasında pozitif korelasyon tespit edildi. Etanol ile hem EtG hem de EtS arasında negatif korelasyon saptandı.

Anahtar Sözcükler: Etanol, Etil Glukuronid, Etil Sülfat, Stabilite

SUMMARY

Determination of Ethanol, Ethyl Glucuronide and Ethyl Sulfate Levels in Long Term Stored Urine Specimens

The stability of the biological sample to be analyzed is as important as the validity and reliability of the methods used for alcohol determination which is one of the crucial subjects of forensic sciences. Alcohol consumption is on the rise globally, and alcohol-related forensic incidents are also increasing apart from health problems caused by alcohol. This indicates that the need for alcohol determination will continue in the coming years. In the scope of this thesis study, urine samples were collected from 10 healthy volunteers after alcohol consumption. Ethanol, ethyl glucuronide (EtG), and ethyl sulfate (EtS) levels were analyzed by chromatographic methods at different times for the stability of urine samples stored at -20ºC for a year. Ethanol was analyzed by headspace gas chromatography while liquid chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry was used for ethyl glucuronide and ethyl sulfate analyses. Ethanol, EtS, and EtG were remained stable for respectively a week, a month, and three months when stored at -20ºC. It was determined that EtG and EtS levels of a year stored urine samples decreased ($p<0,001$) statistically significantly. Moreover, a positive correlation was observed between EtG and EtS. A negative correlation was detected between ethanol and both EtG and EtS.

Keywords: Ethanol, Ethyl Glucuronide, Ethyl Sulfate, Stability

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
Özet	iv
Summary	v
İçindekiler	vi
Önsöz	vii
Simgeler ve Kısaltmalar	ix
Şekiller	xi
Çizelgeler	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Alkol	2
1.2. Alkol Farmakokinetiği	4
1.3. Adli Bilimlerde Alkol	5
1.4. Alkol Tayini ve Belirteçleri	7
1.4.1. Dolaylı Alkol Belirteçleri	10
1.4.2. Doğrudan Alkol Belirteçler	11
1.5. Alkol Tayininde Kullanılan Biyolojik Örnekler	13
1.6. Alkol Tayininde Biyolojik Örnek Stabilitesi	15
1.7. Adli Amaçlı Alkol Tayini ve Şahit Numune	18
1.8. Alkol Tayininde Kullanılan Yöntemler	20
1.8.1. Headspace Gaz Kromatografisi (HS-GC)	21
1.8.2. Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometrisi/Kütle Spektrometrisi (LC-MS/MS)	22
2. GEREÇ ve YÖNTEM	24
2.1. Gereç	24
2.1.1. Kimyasallar	24
2.1.2. Cihazlar ve Sarf Malzemeler	25
2.2. Enstrümental Koşullar ve Metot Validasyonu	25
2.3. Yöntem	29
3. BULGULAR	31
3.1. Etanol Analiz Sonuçları	31
3.2. Etil Glukuronid Analiz Sonuçları	43
3.3. Etil Sülfat Analiz Sonuçları	55
4. TARTIŞMA	69
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	74
KAYNAKLAR	76
EKLER	87
Ek-1. Etik Kurul Kararı	87
Ek-2. Aydınlatılmış Onam Formu	88
ÖZGEÇMİŞ	90

ÖNSÖZ

Uzun dönem saklanan idrar örneklerinin stabilitesinin belirlenmesi amacıyla tez çalışması kapsamında etanol, etil glukuronid ve etil sülfat parametreleri sekiz farklı zaman diliminde kromatografik yöntemlerle analiz edilmiştir. Çalışma kapsamında elde edilen verilerin literatüre ve gelecek çalışmalara katkı sağlaması hedeflenmiştir.

Doktora çalışmalarım boyunca yol gösteren ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen sayın danışmanım Prof. Dr. Aslıhan GÜRBÜZ BOLKAN'a,

Tez çalışmaları için laboratuvarının kapılarını açan, bilimsel ve teknik destek veren kıymetli ikinci danışmanım Prof. Dr. Mukaddes GÜRLER'e,

Akademik çalışmalarımın her anında cesaretlendiren, sonsuz destek veren, her soruna çözüm geliştiren ve tez çalışmasına benim kadar emeği geçen Prof. Dr. Yeşim DOĞAN'a,

Bilimsel katkı ve destekleri için tez izleme komitesi üyeleri Prof. Dr. H. Sinan SÜZEN'e ve Prof. Dr. Onur ERDEM'e,

Doktora eğitimim boyunca destekleri için Ankara Üniversitesi Adli Bilimler Enstitüsü öğretim üyelerine ve idari personeline,

Tez çalışmasının gerçekleştirilmesine her daim katkı ve destek veren Dr. N. Umut AKINCIOĞLU'na, Dr. Kenan Can TOK'a, Dr. Minela Aslan'a ve Devrim AYDIN'a,

Çalışmaya örnek sağlayan tüm katılımcılara,

Laboratuvar çalışmalarındaki destekleri için Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı Adli Toksikoloji Laboratuvarı çalışanları Pınar YILMAZCAN'a, Ebru ÖZCAN DOĞAN'a ve Şahin KARKIN'a,

İstatistiksel analiz çalışmalarındaki katkıları için Dr. İrem KAR'a,

Akademik çalışmalarıma olanak sağlayan kurumum TÜBİTAK'a ve manevi destek veren mesai arkadaşlarıma,

Hayatımın her döneminde maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen sevgili aileme,

En içten duygularımla teşekkür ederim.

SİMGELER ve KISALTMALAR

5-HIAA	5-Hidroksiindolasetik asit
5-HT3	5-Hidroksitriptamin 3
5-HTOL	5-Hidroksitriptofol
ACSL	Asetat Koenzim A Ligaz
ADH	Alkol Dehidrogenaz Enzimi
ALDH	Aldehit Dehidrogenaz Enzimi
ALT	Alanin Aminotransferaz
AST	Aspartat Aminotransferaz
ATP	Adenozin Trifosfat
BAC	Kan Alkol Konsantrasyonu
B-HEX	Beta Heksozaminidaz
BrAC	Nefes Alkol Konsantrasyonu
CDT	Karbonhidrat Eksik Transferrin
COMT	Katekol O-metiltransferaz
dl	Desilitre
EtG	Etil Glukuronid
EtS	Etil Sülfat
FID	Alev İyonizasyon Dedektörü
g	Gram
GABA	Gama Aminobütirik Asit
GC	Gaz kromatografisi
GGT	Gama Glutamil Transferaz
HS-GC	Headspace Gaz Kromatografisi
ISO	Uluslararası Standartlar Teşkilatı
IUPAC	Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği
kg	Kilogram
LC-MS/MS	Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometrisi/Kütle Spektrometrisi
LOD	En düşük tespit sınırı
LOQ	En düşük miktar belirleme sınırı
MAO	Monoamin Oksidaz
MCV	Ortalama Korpüsküler Hacim
mg	Miligram
ml	Mililitre
NAD	Nikotinamid Adenin Dinükleotidin
NaF	Sodyum florür
NMDA	N-Metil-D-Aspartat

OECD	Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü
PEth	Fosfatidiletanol
rpm	Dakika Başına Devir
SOFT	Adli Toksikologlar Derneği
SWGTOX	Adli Toksikoloji Bilimsel Çalışma Grubu
UAC	İdrar Alkol Konsantrasyonu
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
YAEE	Yağ Asidi Etil Esterler

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Alkol'ün kimyasal yapısı 2
Şekil 1.2. Etanol metabolizması 5
Şekil 1.3. Kromatografik yöntemler 21
Şekil 1.4. Headspace gaz kromatografisi 22
Şekil 1.5. Sıvı kromatografi-kütle spektrometrisi/kütle spektrometrisi 23
Şekil 2.1. Etanol kalibrasyon grafikleri 27
Şekil 2.2. EtG kalibrasyon grafiği 27
Şekil 2.3. EtS Kalibrasyon grafiği 27
Şekil 2.4. İnternal standart kromatogramları (100ppb) a. EtG b. EtS c.EtG-D5 d.EtS-D5 28
Şekil 2.5. Headspace gaz kromatografisi ile etanol tayini 29
Şekil 2.6. LC-MS/MS ile EtG ve EtS tayin 30
Şekil 3.1. Etanol analiz grafiği 32
Şekil 3.2. Etanol % değişim grafiği 33
Şekil 3.3. Katılımcı 1 etanol sonuçları. 1a ve 1b: 1.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 2a ve 2b: 3.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 3a ve 3b: 7.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 34
Şekil 3.4. Katılımcı 2 etanol sonuçları. 1a ve 1b: 1.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 2a ve 2b: 3.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 3a ve 3b: 7.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 35
Şekil 3.5. Katılımcı 3 etanol sonuçları. 1a ve 1b: 1.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 2a ve 2b: 3.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 3 ve 3b: 7. Gün kromatogramı ve analiz sonucu 36
Şekil 3.6. Katılımcı 4 etanol sonuçları. 1a ve 1b: 1.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 2a ve 2b: 3.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 3a ve 3b: 7.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 37
Şekil 3.7. Katılımcı 5 etanol sonuçları. 1a ve 1b: 1.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 2a ve 2b: 3.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 3a ve 3b: 7.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 38
Şekil 3.8. Katılımcı 6 etanol sonuçları. 1a ve 1b: 1.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 2a ve 2b: 3.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 3a ve 3b: 7.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 39
Şekil 3.9. Katılımcı 7 etanol sonuçları. 1a ve 1b: 1.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 2a ve 2b: 3.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 3a ve 3b: 7.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 40
Şekil 3.10. Katılımcı 8 etanol sonuçları. 1a ve 1b: 1.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 2a ve 2b: 3.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 3a ve 3b: 7.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 41
Şekil 3.11. Katılımcı 9 etanol sonuçları. 1a ve 1b: 1.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 2a ve 2b: 3.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 3a ve 3b: 7.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 42

Şekil 3.12. Katılımcı 10 etanol sonuçları. 1a ve 1b: 1.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 2a ve 2b: 3.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 3a ve 3b: 7.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 43
Şekil 3.13. EtG % değişim grafiği 44
Şekil 3.14. Katılımcı 1 EtG sonuçları 45
Şekil 3.15. Katılımcı 2 EtG **sonuçları** 46
Şekil 3.16. Katılımcı 3 EtG sonuçları 47
Şekil 3.17. Katılımcı 4 EtG sonuçları 48
Şekil 3.18. Katılımcı 5 EtG sonuçları 49
Şekil 3.19. Katılımcı 6 EtG sonuçları 50
Şekil 3.20. Katılımcı 7 EtG sonuçları 51
Şekil 3.21. Katılımcı 8 EtG sonuçları 52
Şekil 3.22. Katılımcı 9 EtG sonuçları 53
Şekil 3.23. Katılımcı 10 EtG sonuçları 54
Şekil 3.24. EtS % değişim grafiği 55
Şekil 3.25. Katılımcı 1 EtS sonuçları 57
Şekil 3.26. Katılımcı 2 EtS sonuçları 58
Şekil 3.27. Katılımcı 3 EtS sonuçları 59
Şekil 3.28. Katılımcı 4 EtS sonuçları 60
Şekil 3.29. Katılımcı 5 EtS sonuçları 61
Şekil 3.30. Katılımcı 6 EtS sonuçları 62
Şekil 3.31. Katılımcı 7 EtS sonuçları 63
Şekil 3.32. Katılımcı 8 EtS sonuçları 64
Şekil 3.33. Katılımcı 9 EtS sonuçları 65
Şekil 3.34. Katılımcı 10 EtS sonuçları 66
Şekil 3.35. Katılımcıların EtG ve EtS analiz grafikleri 68

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Alkollü içeceklerin üretim yöntemleri ve alkol oranları 4
Çizelge 1.2. Kan alkol konsantrasyona göre yaygın görülen belirti ve semptomlar 7
Çizelge 1.3. Alkol belirteçlerinin kanda ortalama tespit süresi 9
Çizelge 1.4. Alkol stabilite çalışmaları 16
Çizelge 2.1. İdrar örneklerinin zamana göre analiz detayları 24
Çizelge 2.2. Headspace gaz kromatografisine ilişkin parametreler 25
Çizelge 2.3. EtG ve EtS için MRM parametreleri 26
Çizelge 2.4. Validasyon parametreleri ve tanımları 26
Çizelge 2.5. Analitlere ait validasyon sonuçları 28
Çizelge 3.1. Katılımcılara ilişkin çalışmanın tanımlayıcı verileri 31
Çizelge 3.2. Katılımcıların EtG (ng/ml) ile ilişkili verileri 31
Çizelge 3.3. Katılımcıların EtS (ng/ml) ile ilşkili verileri 31
Çizelge 3.4. Etanol analiz sonuçları 32
Çizelge 3.5. EtG analiz sonuçları 44
Çizelge 3.6. EtS analiz sonuçları 55
Çizelge 3.7. Etanol-EtG ve Etanol-EtS korelasyon sonuçları 67
Çizelge 3.8. EtG-EtS korelasyon sonuçları 67

1. GİRİŞ

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından hazırlanan 2018 yılı Küresel Alkol ve Sağlık Durum Raporu'na göre 2,3 milyar kişi akut veya kronik düzeyde alkol tüketmektedir. Zararlı alkol tüketimi çok sayıda hastalık, kaza ve yaralanma için önemli bir risk faktörü olup yılda 3 milyon kişinin ölümüne neden olmaktadır (WHO, 2018). Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü (OECD) verilerine göre alkol tüketimi, çalışma çağındaki kişiler için önde gelen ölüm ve maluliyet sebeplerindendir. Bulaşıcı olmayan hastalıklardan kaynaklı ölümlerin başlıca risk faktörleri arasında obezite, sigara kullanımı ve alkol tüketimi yer almakta (OECD, 2023) olup zararlı alkol tüketimi, morbidite ve mortalite nedenleri arasındadır. Alkol ile ilişkilendirilen morbidite ve mortalite olgularında alkolün karaciğer üzerindeki toksik etkileri ön planda rol almaktadır. Sağlık harcamalarının ortalama %2,4'ünü alkol tüketiminden kaynaklı yaralanma ve hastalıkların tanı ve/veya tedavisi oluşturmakta iken alkol tüketiminin yüksek olduğu ülkelerde bu oran %4'ü bulmaktadır (OECD, 2021). Mevcut veriler, alkol tüketiminin hem toplumsal, sosyolojik ve ekonomik ağır sonuçları olan bir halk sağlığı sorunu olduğunu (Brummer vd., 2022; Friesen vd., 2022; Room vd., 2005; Sontate vd., 2021; Varghese ve Dakhode, 2022) hem de suç işlemeyi kolaylaştırıcı etkisiyle (Evans vd., 2021; Fitterer ve Nelson, 2015) toplumsal güvenlik meselesi olduğunu göstermektedir.

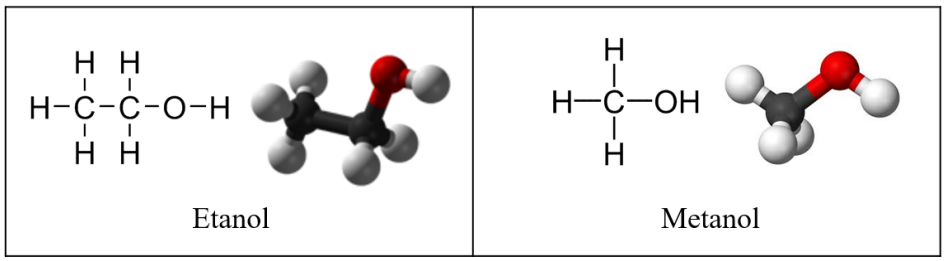
21 ülkeden 18-34 yaş aralığında 63.725 katılımcı ile yapılan çalışma sonuçlarına göre son 1 yılda katılımcılardan %40'ı, alkollü kişi/kişiler tarafından sözlü veya fiziki olarak zarara maruz kalmıştır (Bellis vd., 2015). İngiltere ve Galler bölgesinde yapılan bir çalışmada her 5 şiddet olayından 2'sinin alkol ile ilişkisi olduğu tahmin edilmektedir (Waller, 2023). Tayland'da alkol tüketiminin aile içi şiddeti 4 kat arttırdığı ve gençler tarafından işlenen her 5 suçtan 2'sinde alkol etkisi olduğu bildirilmekte olup nüfusun %82'sinin alkollü kişi/kişiler nedeniyle zarar gördüğü raporlanmıştır (WHO, 2018). Alkol tüketiminin suç ile ilişkisine yönelik olarak doğudan batıya, kuzeyden güneye tüm ülkelerde önlem alınması gerektiğini ortaya koyan çalışmalar mevcut (Lehti ve Sirén, 2020; Patra vd., 2011; Pierobon vd., 2013; Udesen vd., 2023; Waller, 2023) olup alkol tüketiminin ve alkol tüketimine bağlı zararların azaltılması odaklı çözüm arayışları ve farkındalık oluşturmayı hedefleyen çeşitli vergi düzenlemeleri, caydırıcı ceza uygulamaları, alkol tüketim alanlarında kısıtlama, alkol satışı ve tüketimi için yaş ve saat sınırı, alkollü içeceklerin etiketlerinde uyarılar, kamu spotları vb. yaygın uygulamalar bulunmaktadır (Bellis vd., 2015; Karriker-Jaffe vd., 2023; WHO, 2018).

Kazadan cinayete, intihardan yaralanmaya kadar “adli” olarak adlandırılan her olayın aydınlatılması, suçun ve suçlunun tespiti, failin cezalandırılması, mağdurun korunması ve suçtan kaynaklı zararının giderilmesi, kamu düzeninin ve güvenliğinin tesisi yani adaletin sağlanması için alkol kullanımının ve miktarının tayini adli bilimler açısından önemli bir konudur. İşte bu nedenle dünyada adli amaçla en sık yapılan analiz, alkol tayinidir (Vance vd., 2015).

Kovuşturma ve soruşturma sırasında yapılan analiz sonucuna ilişkin itiraz veya analiz tekrarına karar verilebilmekte; böyle bir durumda ilgili biyolojik örnekte söz konusu parametrelerin analizinin tekrarlanmasının uygun olup olmadığının hususu önem arz etmektedir.

1.1. Alkol

Alkol, doymuş karbon atomuna bağlı hidroksil grubu bulunduran bileşiklerin genel adıdır (Şekil 1.1). Alkoller doymuş (alkandan türeyen), doymamış (çift/üçlü bağ içeren), halojenli (halojen taşıyan) ve aromatik (benzen halkasına hidroksil grubu bağlanan) olarak dört ana gruba ayrılırken, doymuş alkoller yapılarındaki hidroksil sayısına göre mono ve poli alkoller olarak kategorize edilmekte olup mono alkoller ise hidroksil grubuna bağlı karbon atomuna göre primer, sekonder ve tersiyer olarak sınıflandırılmaktadır (Alpaydın ve Şimşek, 2016; Petrucci vd., 2010). Alkollerin adlandırılması, türetildikleri alkil adına alkol kelimesi eklenerek (örneğin; metil alkol, etil alkol vb.) veya IUPAC sistemine göre türetildikleri alkan adına -ol eki eklenerek (örneğin; metanol, etanol vb.) yapılmaktadır (Chalk, 2023).



Şekil 1.1. Alkol’ün kimyasal yapısı

Alkoller uçucu, yanıcı ve renksiz olup suda çözünebilir özelliktedir. Alkol yapısındaki hidroksil (OH) sayısı arttıkça suda çözünürlüğü artmakta iken, karbon (C) sayısı arttıkça suda çözünürlüğü azalmaktadır. Öte yandan molekül kütlesi arttıkça suda çözünürlüğü azalış göstermektedir (Alpaydın ve Şimşek, 2016).

Alkoller, yaygın olarak kullanılan organik çözücülerdir. Bununla birlikte alkollü içecek, ilaç, kozmetik malzeme, temizlik ürünü, biyoyakıt vb. yapımında alkol kullanılmakta olup etanol, metanol, gliserol ve izopropanol endüstriyel olarak en yaygın kullanılan çeşitlerdendir (Vural, 1984).

Alkolün içeceklerde kullanılan formu bir mono alkol olan etanoldür. Metanol, izopropanol, etilen glikol gibi diğer alkol türleri içecek ve gıda olarak tüketime uygun olmayıp tüketilmeleri toksik sonuçlar ortaya çıkarmaktadır (Alpaydın ve Şimşek, 2016; Annette Akgür vd., 2018; Petrucci vd., 2010).

İnsanlık tarihi kadar eskiye dayanan alkolün, üretimi ve tüketimi ile ilgili farklı coğrafyalardan günümüze ulaşan kayıtlar mevcut olup alkol, bazı milletlerin sosyal ve kültürel uygulamalarına tesir etmiştir. Coğrafi farklılıklar ve imkanlar alkol üretiminde arpa, buğday, çavdar, mısır, pirinç, yulaf, üzüm, incir, erik, nar, vişne, böğürtlen vb. farklı ham maddelerin veya kombinasyonlarının kullanılmasına dolayısıyla da farklı alkollü içecek üretimine olanak sağlamıştır (Öncü vd., 2001).

Alkollü içecekler, fermantasyon ve damıtma yöntemleri kullanılarak üretilmektedir. Fermantasyon işleminde mikroorganizmalar (*Saccharomyces cerevisiae*, *Kloeckera apiculata, Aspergillus oryzae vb.*) yardımıyla meyve/tahıl şekeri alkole dönüştürülürken, damıtma işleminde sıvı hale getirilen ürün önce buharlaştırılıp sonra yoğunlaştırılarak alkol elde edilir. Alkol fermantasyonu, reaksiyonlar zinciri sonucu gerçekleşmektedir. Louis Joseph Gay-Lussac'ın çalışmaları neticesinde bugün de kullanılan alkol fermantasyon eşitliği (1 mol glikozdan 2 mol etil alkol + 2 mol karbondioksit + 28.2 kcal enerji) ortaya çıkmıştır. Fermantasyon sonrası elde edilen alkollü sıvının içeriğindeki etil alkol konsantrasyonu düşük seviyede olup damıtma ile konsantrasyonu yükseltilmektedir. Damıtma işleminde temel prensip kaynama noktaları arasındaki fark kullanılarak sıvıların ayırılmasıdır. Damıtmanın tekrar edilmesiyle daha yüksek konsantrasyonda alkol eldesi mümkün hale gelmektedir (Arıcı, 2017; Maiorella vd., 2005; Satar vd., 2020). Yaygın kullanılan bazı alkollü içeceklerin alkol oranları ve üretim yöntemleri Çizelge 1.1'de verilmiştir (Dasgupta, 2011; Özkandan ve Cabaroğlu, 2012).

Çizelge 1.1. Alkollü içeceklerin üretim yöntemleri ve alkol oranları

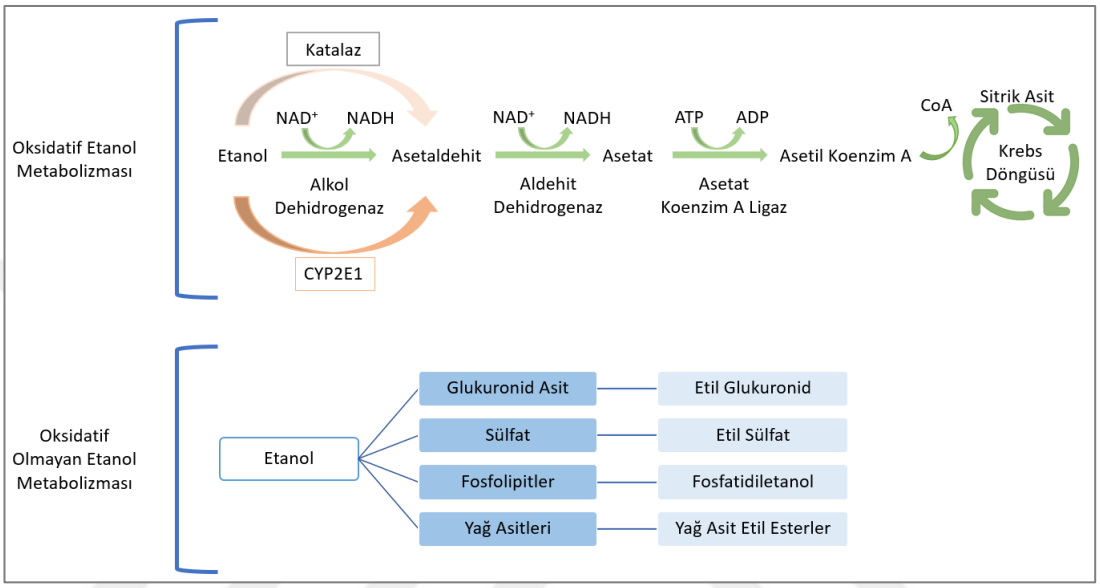
Alkollü İçecek	Üretim Yöntemi	Alkol Oranı (%)
Bira	Fermantasyon	4-10
Şarap	Fermantasyon	7-24
Rakı	Damıtma	40-50
Viski	Damıtma	40-75
Votka	Damıtma	40-50
Cin	Damıtma	40-49
Konyak	Damıtma	40-44
Rom	Damıtma	40-80
Tekila	Damıtma	45-50

1.2. Alkol Farmakokinetiği

Farmakokinetik süreç emilim, dağılım, metabolizma ve atılım olmak üzere dört basamaktan oluşmaktadır. Alkolün farmakokinetik sürecinde etkili olan faktörler arasında aç veya tok olmak, içeceğin yapısı ve miktarı, içme hızı, yaş, cinsiyet, kilo, genetik olan/olmayan hastalık durumu ve hatta sirkadiyen metabolizma ritmi nedeniyle tüketim saati vb. yer almaktadır (Hatip ve Bölükbaşı-Hatip, 2021; Max M. Houck ve Siegel, 2010).

Oral olarak tüketilen alkolün, ilk emilimi yüzde birkaç seviyesinde ağızda başlamakta, dört biri midede ve kalan büyük bölümü ise ince bağırsağın üst kısmında emilerek dolaşıma katılmaktadır. Alkolün midede emilim hızı ince bağırsak ile karşılaştırıldığında yavaş olmakla birlikte, midenin boş olması durumunda emilim dolu olmasına kıyasla hızlı gerçekleşmektedir. Midenin boş olması halinde kan etanol seviyesi yarım saatten daha kısa sürede maksimum konsantrasyona ulaşmakta iken yağlı bir yemeğin üzerine tüketilen alkolün kanda maksimum seviyeye ulaşması saatler sürebilmektedir. Tüketilen alkolün yüzde doksan gibi büyük bölümü karaciğerde metabolize olurken, kalanı ise solunum, terleme ve idrar ile atılmaktadır (Max M. Houck ve Siegel, 2010). Şekil 1.2'de yer aldığı üzere, karaciğerde alkol temel olarak oksidatif ve oksidatif olmayan yollar ile metabolize edilmektedir. Oksidatif olarak etanolün büyük bir kısmı alkol dehidrogenaz enzimi (ADH) aracılığıyla Asetaldehite, aldehit dehidrogenaz enzimi (ALDH) aracılığıyla da Asetata dönüşürken bu süreç koenzim olan nikotinamid adenin dinükleotidin (NAD^+) indirgenmesi (NADH) ile gerçekleşmekte olup ATP hidrolizi ve Asetat Koenzim A ligaz (ACSL) aracılığıyla Asetat, Asetil Koenzim A'ya dönüşerek Krebs döngüsüne katılmaktadır. Bununla birlikte, etanolün sınırlı bir kısmı ise mikrozomal sitokrom P450 ailesinden CYP2E1 ve katalaz enzimleri tarafından metabolize edilmektedir. Öte yandan etanolün, glukuronik asit/sülfat/yağ asitleri/fosfolipitler ile konjugasyonu neticesinde oksidatif olmayan etanol metabolizmasının metabolitleri olarak etil glukuronid, etil sülfat,

fosfatidiletanol ve yağ asidi etil esterleri oluşmaktadır (Heier vd., 2016; Hyun vd., 2021; Zakhari, 2006). Tüketilen alkol %90-98 seviyesinde metabolize edilirken %2-10 seviyesindeki bir bölümü ise solunum, ter ve idrar yoluyla ile atılmaktadır. Tüketilen miktar yüksekse metabolize edilen etanol seviyesi %90'lara kadar düşebilmektedir (Jones, 2019; Kayaalp, 2002; Klostranec vd., 2020).



Şekil 1.2. Etanol metabolizması

1.3. Adli Bilimlerde Alkol

Adli bilimler açısından içecek olarak tüketilen etil alkol kadar metanol, izopropanol, gliserol, etilen glikol ve diğer alkol türleri de önem arz etmektedir. Adli bilimlere konu olan olay örgüsüne göre maruz kalınan alkol türü/türleri değişebilmekte olup bu olaylar cinayet, intihar, trafik kazası, iş/ev kazası, aşırı doz alkol tüketimi, kaçak alkol tüketimi, bağımlılık vb. onlarca farklı senaryo ile karşımıza çıkabilmektedir. Etanol harici alkol türlerinin içecek olarak tüketime uygun olmaması intoksikasyona neden olmakta iken, ilacı zehirden dozun ayırması kuralı, tüketime uygun etanol için de geçerlidir. Yüksek miktarda etanol tüketmek de intoksikasyon ile sonuçlanmaktadır. İntoksikasyon etkileri nedeniyle aşırı doz tüketime bağlı olarak geri dönüşümü mümkün olmayan zarar veya ölüm görülebilmektedir. Ancak, her intoksikasyon ölümcül değildir. Alkol tüketimi/maruziyeti hayati seviyeye gelmeden kişinin vücudundaki alkol miktarı nedeniyle yaşadığı muhakeme ve beceri kayıpları kaza, düşme, boğulma, yanma vb. olaylara zemin hazırlamakta yüksek potansiyel barındırmaktadır.

Adli bilimlerde alkol tayini, adli toksikolojinin en sık uygulanan analizleri arasındadır (Bujaroska vd., 2022). Adli bilimlerin ve toksikolojinin kesişim kümesinde yer alan adli toksikoloji; postmortem toksikoloji, adli amaçlı madde/ilaç incelemeleri, insan performans/davranış toksikolojisi ve doping kontrolü olmak üzere dört disipline ayrılmaktadır. Alkol tayininde temel amaç adli boyut kazanan olayda alkol etkisi var mı, varsa hangi seviyede olduğu, olay anında alkollü olunup olmadığının ve miktarının tespiti olarak özetlenebilir. Alkolün oral, dermal, inhalasyon veya enjeksiyon yoluyla alınması emilim ve dağılım yönüyle farklılık oluştursa da metabolizma ve atılım sürecini etkilemediğini söylenebilmektedir. Alkol suda çözünme özelliği ve taşınması için bir moleküle bağlanma gerektirmemesi nedeniyle kan-beyin bariyerini geçerek tüm vücut sıvılarına ve su bazlı dokulara ulaşabilmektedir (Mercan ve Türkmen, 2023).

Alkol, merkezi sinir sistemi üzerinde depresan etki göstermekte olup santral nöromediyatörlerle etkileşime girmekte ve gama aminobütirik asit (GABA), N-metil-D-aspartat (NMDA), glisin, serotonin 5-HT3 reseptörü dahil olmak üzere çeşitli reseptörlere bağlanmaktadır (Nisbet vd., 2023). Tüketilen alkol miktarı ile ilişkili olarak muhakeme gücünün azalmasından, agresif davranış veya şiddet eğiliminde artışa ve hatta koma/ölüme kadar uzanan olumsuzluklar ortaya çıkabilmektedir. Akut ve kronik alkol tüketicilerinde, aynı miktar alkolün kronik alkol tüketicilerinde gelişen tolerans/alkol tüketmeyen veya toleransı olmayan akut tüketicilerde farklı etkilere sebep olması mümkündür (Baduroğlu ve Durak, 2010; Geniş vd., 2022; Lees vd., 2020; Levine vd., 2020). Öte yandan tüketilen alkol miktarına bağlı olarak yaygın görülen belirti ve semptomlar Çizelge 1.2'de verilmiştir (Baduroğlu ve Durak, 2010; Dubowski, 1980; Moore, 2020; Nisbet vd., 2023; Vonghia vd., 2008).

Çizelge 1.2. Kan alkol konsantrasyona göre yaygın görülen belirti ve semptomlar

Kan Alkol Konsantrasyonu (mg/dl)	Belirti ve Semptomlar
< 30	Davranış değişiklikleri Dikkatin azalması İnce motor becerilerde azalma Araç kullanma gibi becerilerde güçlük
30- 50	Kendine güven artışı Konuşkanlık Rahatlama Motor becerilerde azalma
50-150	Muhakeme güçlüğü Duygudurum değişiklikleri Reaksiyonda azalma Konuşma, yürüme ve denge güçlüğü Psikomotor becerilerde güçlük
150-300	Ataksi Mide bulantısı Baş dönmesi Çift görme Nistagmus Sözcükleri söyleyememe Uyku hali
300-400	Kusma ve buna bağlı aspirasyon ihtimali Hipotermi Hipoglisemi Koma
>400	Solunum depresyonu Kan basıncının düşmesi Bilinç kaybı Ölüm

1.4. Alkol Tayini ve Belirteçleri

Alkol tayini hem yaşayan hem de hayatını kaybeden kişilerin biyolojik örneklerinde; kan, idrar, tükürük, vitröz sıvı vb. vücut sıvılarında, yağ doku harici doku ve organlarda gerçekleştirilebilmektedir.

Kan etanol seviyesinin ölçü birimi olarak promil (mg/dl) kullanılmakta olup 0.5 promil; 100 ml kanda 50 mg alkol olduğunu göstermektedir. Ortalama olarak kan etanol konsantrasyonunun maksimum seviye ulaştıktan sonra saatte 0.15 promil düştüğü kabul edilmektedir (Jones, 2010). Ancak çeşitli etkenlerle (cihaz kalibrasyonu, tolerans, farmakokinetik hususlar vb.) her zaman ve her kişide ortalama kabul edilen saatte 0.15 promil düşüş tam olarak gerçekleşmeyebilir (Annette Akgür vd., 2018).

Tüketilen alkol miktarına göre vücuttaki alkol miktarının (gram) tahmini için yaygın olarak Widmark formülü kullanılmaktadır. Widmark formülünde (A=c.r.p) vücuttaki gram cinsi alkol miktarı (A); gram cinsi kan alkol konsantrasyonu (c), cinsiyete göre sabit sayı (r: ♀:0,6 ve ♂:0,7) ve kg cinsi vücut ağırlığı (p) ile hesaplanmaktadır (Çoltu, 1985).

Postmortem etanol analizine etki eden pek çok faktör bulunmaktadır; cesedin hangi koşullarda olduğu, biyolojik örneğin nereden ve ne zaman alındığı, antemortem sağlık durumu (diyabet, kalp/karaciğer hastalıkları vb.), ilaç/madde kullanımı vb. Postmortem süreçte kontaminasyon, mikrobiyal faaliyet ve endojen alkol oluşumu alkol tespitinde yanıltıcı olabilecek hususlar arasında olup kalp, mide, bağırsak vb. bölgelerden kan/doku analiz için tercih edilmemektedir. Bu nedenle postmortem alkol tayininde femoral/periferik ven (Oshaug vd., 2022) veya baş/boyun veninden kan almak öncelikle tercih edilmekte iken mümkün olmadığı durumlarda diğer vücut sıvılarında; idrar, vitröz sıvı ve beyin omurilik sıvısında analiz yapılmaktadır (Olds ve Jones, 2024; Savini vd., 2020; Wachholz vd., 2023). Öte yandan etanol farmakokinetiğini etkileyen unsurlar, analiz edilen biyolojik örneğin ve örneğin alındığı yerin özellikleri, kontaminasyon, cesedin bozulma evresi vb. hususlar dikkate alındığında analizin tek örnek yerine vücudun farklı yerlerinden alınan örneklerde yapılmasını öneren araştırmalar (Marti vd., 2021) bulunmaktadır. Postmortem etanol oluşumu kanda daha fazla iken idrarda kana göre daha az ve vitröz sıvıda en az seviyede de olsa mümkün olması nedeniyle özellikle düşük etanol konsantrasyonunun söz konusu olduğu durumlarda bir etanol metabolitinin eş zamanlı analizi endojen/eksojen alkol tayini için önem arz etmektedir (Oshaug vd., 2022).

Yaşayan kişiden alkol tayininde nefes, kan ve idrar en sık kullanılan biyolojik örneklerden olup biyolojik örnek alımındaki çeşitli hususlar; kullanılan bazı ilaçlar (örneğin; dişinol), alkol bazlı ağız temizleme solüsyonları, örnek alınacak bölgenin alkol içerikli dezenfektanla temizlenmesi, kolonya, enerji içecekleri, fermante içecekler vb. yanıltıcı sonuca neden olabilmektedir (Annette Akgür vd., 2018; Lutmer vd., 2009; Özhan vd., 2020; Uysal vd., 2014).

Alkol tayininde, nefes alkol konsantrasyonu (BrAC), kan alkol konsantrasyonu (BAC), idrar alkol konsantrasyonu (UAC), karaciğer enzimleri (aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), gama glutamil transferaz (GGT)), ortalama korpüsküler hacim (MCV), karbonhidrat eksik transferrin (CDT), 5-Hidroksitriptofol (5-HTOL), Beta heksozaminidaz (B-HEX), 5-Hidroksiindolasetik asit (5-HIAA), asetaldehit, yağ asidi etil

esterler (YAEE), etil glukuronid (EtG), etil sülfat (EtS) ve fosfatidiletanol (PEth)) belirteç olarak kullanılmaktadır. Öte yandan kronik alkol tüketimini/bağımlılığını takip için kullanılan monoamin oksidaz (MAO), kannabinoid reseptörleri, katekol O-metiltransferaz (COMT) vb. ek belirteçler de mevcuttur (Andresen-Streichert vd., 2018; Bortolotti ve Tagliaro, 2011; Harris vd., 2021; Jones, 2023; Max M. Houck ve Siegel, 2010; Niemela, 2016; Peterson, 2004; Ulwelling ve Smith, 2018). Söz konusu bu belirteçlerin alkol tüketimini müteakip ne kadar süre kanda tespitinin mümkün olduğuna dair ortalama veriler Çizelge 1.3'te verilmiştir (Harris vd., 2021; Sidqey vd., 2021).

Çizelge 1.3. Alkol belirteçlerinin kanda ortalama tespit süresi

Belirteç	**Alkol Tüketimi Sonrası Ortalama Belirteç Tespit Süresi**
EtOH	<1 Gün
EtG	Birkaç Gün
EtS	Birkaç Gün
YAEE	2-5 Gün
Beta-Hex	7-10 Gün
GGT	2-6 Hafta
ALT	2-3 Hafta
AST	2-3 Hafta
PEth	3 Hafta
CDT	3 Hafta
MCV	2-4 Ay

Nefesten alkol tayininde temel prensip, kandan dolaşım ile akciğere ulaşan alkolün solunum ile dışarı atılmasına dayanmakta olup bir tıbbi cihaz olarak kabul edilen alkolmetre ile gerçekleştirilmektedir. İnvaziv olmayan bu ölçüm esnasında cihazın kullanımı için sağlık personeli gerekmemesi nefesten alkol tayinini hızlı ayırıcı tanı yöntemi olarak ön plana çıkarmaktadır. Hızlı, kolay ve kan alkol oranına yakın sonuç vermesi trafik denetimlerinde alkolmetre kullanımının tercih nedenlerindendir. Kan ve nefes alkol oranı ortalama olarak 1/2100 kabul edilmektedir. Alkolmetre ile ölçümde cihaz, nefes alkol sonucunu bu oran ile çarparak yaklaşık olarak kan alkol konsantrasyonunu vermektedir (Jones, 2000). Ülkemizde alkol etkisi altında (hususi otomobil sürücülerinin için 0.50 promil (50 mg/dl), diğer araç sürücüleri için 0.20 promil (20 mg/dl)) araç kullanmak 2918 sayılı Karayolları Trafik Kanunu, madde 48 uyarınca yasaktır ve tespiti için kolluğun alkolmetre ile teknik ölçüm yetkisi olduğu belirtilmektedir. Kolluk gücünün müdahil olduğu ölümlü ve/veya yaralanmalı trafik kazalarında sürücüde alkol tayini zorunlu olup biyolojik örnek (kan, tükürük veya idrar) alınarak alkol etkisi altında olup olmadığı belirlenmektedir. Öte yandan kolluk gücünün teknik alkol ölçümüne itiraz/müsaade edilmemesi durumunda kişi resmi sağlık kuruluşuna

götürülerek ölçüm gerçekleştirilir (Karayolları Trafik Kanunu, 1983). Bununla birlikte, Karayolları Trafik Yönetmeliği'nin 97 (3) maddesi uyarınca kaza saati ile sağlık kuruluşunda test saati arasında geçen her 1 saat için 0.15 promil eklenerek kan alkol oranı belirlenmektedir (Karayolları Trafik Yönetmeliği, 1997).

Kan alkol konsantrasyonunun ölçümü ile alkol tayini eski ve temel bir yöntemdir (Öztürel, 1979). Etanol, kanda maksimum seviyeye ulaştıktan sonra hızlı bir şekilde düşer ve bu nedenle tüketilen miktara bağlı olarak kanda tespit aralığı kısadır. Kan dolaşımında etanolün uzun süre bulunmaması, stabil olmaması, bireysel ve çevresel faktörlerin etkisi vb. çok sayıda değişken parametrenin müdahil olması geriye yönelik alkol kullanımı olup olmadığının anlaşılabilmesi yeni belirteçlere olan ihtiyacı da beraberinde getirmiştir (Swift, 2003). Bu açıdan günümüzde geriye yönelik alkol kullanımının tespiti için en sık EtG, EtS, PEth ve YAEE analizi yapılmaktadır.

1.4.1. Dolaylı Alkol Belirteçleri

Ortalama korpüsküler hacim (MCV) ve karbonhidrat eksik transferrin (CDT), alkol tüketiminin dolaylı kan belirteçlerindendir. MCV, oksijen içeren hemoglobin proteinini taşımada görevli eritrositlerin ortalama hacmini ve boyutunu ifade etmektedir (Maner ve Moosavi, 2022). Kronik alkol tüketiminde MCV artış göstermekte olup haftada 40 g alkol tüketiminin MCV seviyesinde %0,3 artışa neden olduğu varsayılmakla birlikte, tüketilen alkol miktarının artması MCV seviyesindeki artışı da tetiklemektedir (Thompson vd., 2021). Öte yandan MCV'nin, tek başına kullanımından ziyade diğer belirteçlerle birlikte kullanımı söz konusudur.

Transferrin, demir taşımada görevli sialik asit içeren bir glikoproteindir ve yapısında karbonhidratın azalması ile karbonhidrat eksik transferrin (CDT) meydana gelmektedir. Kronik alkol tüketiminde CDT artış göstermekte olup 1-2 hafta boyunca 50g/gün alkol tüketimi CDT seviyesinde belirgin artışa neden olmakta (Bornhorst ve Mbughuni, 2019) iken yarılanma ömrü 15 gün kadardır (Sharpe, 2001).

Karaciğer enzimlerinden olan aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT) ve gama glutamil transferaz (GGT) alkol tüketiminin dolaylı belirteçlerindendir. Alkol tüketimi ve bazı hastalıklar karaciğer enzimlerinde artışa neden olmakta iken AST/ALT oranı artışın kaynağını tespitte yol gösterici olabilmektedir. Normal şartlarda bu oran 1 iken, alkol

tüketimi kaynaklı hasarda oran 1'den yüksek olup 2'den yüksek olması ise hastalıklarla ilişkilendirilmektedir (Nyblom vd., 2004). Gama glutamil transferaz, glutatyonun gama glutamil bağını keserek, hücre içi glutatyon sentezi için gerekli amino asitleri hücre dışındaki glutatyondan temin eden enzimdir. GGT seviyesinin artışı kronik alkol tüketimi dışında karaciğer, kalp, böbrek, safra kesesi hastalıkları gibi hastalıklardan kaynaklı da olabilmektedir (Bornhorst ve Mbughuni, 2019). 3-6 hafta boyunca 60 g üzerinde alkol tüketiminin GGT seviyesinde gözlemlenebilir artışa neden olduğu bildirilmekte olup yarılanma ömrü 14-26 gün arasındadır (Sharpe, 2001). Beta heksozaminidaz (B-HEX), lizozomal glikozidaz olup 10 gün boyunca 60 g üzerinde alkol tüketimi B-HEX seviyesinde belirgin artışa sebep olmakla birlikte, hipertansiyon, diyabet, siroz gibi bazı hastalıklarda da arttığı bilinmektedir. B-HEX yarılanma ömrü ortalama 7 gündür (Torrente vd., 2012).

5-Hidroksitriptofol (5-HTOL) ve 5-Hidroksiindolasetik asit (5-HIAA) serotonin metabolizması sonucu oluşan metabolitlerden olup alkol tüketimi 5-HIAA üretiminin azalmasına ve 5-HTOL üretiminin artmasına yol açmakta iken 5-HTOL/5-HIAA oranı akut alkol tüketimi için kullanılan bir belirteç olmakla birlikte, bağımlılık takibinde de kullanılabilmektedir. Aşırı alkol tüketiminin ertesi günü etanolün tayin edilemediği durumda 5-HTOL/5-HIAA oranının yüksek olduğu bilinmekte ve bu belirteç "akşamdan kalmalık" olarak tanımlanan alkol tüketimin ertesi günü görülen genel semptomlarla (baş ağrısı, bulantı vb.) da ilişkilendirilmektedir (Mackus vd., 2021).

1.4.2. Doğrudan Alkol Belirteçler

Asetaldehit, alkol metabolizmasının ilk basamağında oluşan bir metabolit olup bazı proteinlere de bağlanabilir (örneğin; hemoglobin, albümin vb.). Tek başına iken Asetaldehidin tayin edilebildiği süre birkaç saat iken proteinlerle bileşik oluşturması tayin süresini birkaç haftaya kadar uzatmaktadır (Fakhari ve Waszkiewicz, 2023; Peterson, 2004).

Yağ asidi etil esterler (YAEE), oksidatif olmayan etanol metabolizması sonucu esterifikasyon ile oluşan metabolitler olup hem akut hem de kronik alkol tüketiminde kullanılabilmektedir. YAEE'ler arasında en çok kullanılanları etil miristat, etil palmitat, etil stearat ve etil oleat olarak sayılabilir. Tüketilen alkol miktarına bağlı olarak YAEE'nin kanda tespit süresi 4-5 günü bulabilmekte iken farklı biyolojik örneklerde (saç ve mekonyum gibi) uzun dönem tespit imkanı sağlamaktadır (Harris vd., 2021; Jastrzebska vd., 2016; Trius-Soler vd., 2023).

Fosfatidiletanol (PEth), alkol kullanımı sonucu fosfatidilkolinin, fosfalipaz D tarafından katalizi ile ortaya çıkan etanol metaboliti bir fosfolipittir. Biyokimyasal olarak hücre membranındaki fosfatidilkolinin, fosfalipaz D enzimi tarafından hidrolizi sonucu fosfatidik asit ve kolin meydana gelmekte iken alkol tüketimi halinde fosfalipaz D'nin etanole afinitesinin sudan yüksek olması nedeniyle PEth oluşmaktadır (Chalifa-Caspi vd., 1998; Perilli vd., 2023). Fosfatidiletanol, fosfoetanol baş grubuna gliserol omurgası ile bağlı iki yağ asidi zincirinden meydana gelen homolog grubudur. Tanımlanmış 48 adet fosfatidiletanol homoloğu mevcut olup fosfatidiletanolün %37'sini 16:0/18:1 (palmitik asit/oleik asit), %25'ini 16:0/18:2 (palmitik asit/linoleik asit) ve %13'ünü 16:0/20:4 (palmitik asit/araşidonik asit) türleri oluşturmaktadır (Aboutara vd., 2021; Helander ve Zheng, 2009). AST, ALT, MCV, CDT, GGT gibi dolaylı etanol belirteçlerinin aksine kan PEth seviyesi yaş, cinsiyet, hastalık durumu gibi bireysel faktörlerden ve kazara maruziyetlerden etkilenmemektedir (Wurst vd., 2010). Pozitif PEth sonucuna günlük 50 g olmak üzere 3 hafta sürede 1000 g alkol tüketimi ile ulaşılabileceği bildirilmektedir. Spesifitesinin ve sensitivitesinin yüksek olması nedeniyle alkol kullanım bozukluğunun klinik takibinde kullanılan belirteçlerdendir. Kanın yanı sıra beyin, karaciğer, böbrek, dalak gibi dokularda tespiti mümkündür (Thompson vd., 2016).

Etanolün %1'den daha az bir kısmı oksidatif olmayan yol ile metabolize olmaktadır. Tüketilen etanol miktarının yaklaşık olarak %0,02-0,06'sı EtG olarak %0,010-0,016'sı da EtS olarak idrarla atılmaktadır (Maenhout vd., 2013).

Etil glukuronid (EtG), etanole UDP-glukuronoziltransferaz enzimi tarafından glukuronik asit eklenmesi sonucu oluşan oksidatif olmayan bir etanol metabolitidir. Kimyasal formülü $C_8H_{14}O_7$'dir (Heier vd., 2016). Köpek ve tavşan idrar örneklerinde etanol konjugatı olarak EtG, ilk kez 1901 yılında tespit edilmiş ve 1953 yılında ise oral olarak etanol verilen tavşanların idrar örneklerinde β-D-glukuronik asit izole edilmiştir. İnsanda minör etanol metaboliti tanımlanması 1967 yılında gerçekleştirilmiştir (Palmer, 2009). Bugün gelinen noktada EtG doğrudan alkol belirteçleri arasında sayılmakta; antemortem ve postmortem alkol tayininde, alkolün kötüye kullanımında ve bağımlılığın izleminde kullanılmaktadır. Kan, idrar, saç, tırnak, mekonyum gibi biyolojik materyallerde ölçülebilmektedir (Arnts vd., 2021; Fakhari ve Waszkiewicz, 2023; Triolo vd., 2022; Wurst vd., 1999). EtG, alkol tüketimini müteakip olarak kanda ilk saatte tespit edilebilirken, seviyesi 2-3 saat içinde maksimuma ulaşmaktadır. Bununla birlikte, alkol tüketimini müteakip olan birkaç saat içinde idrarda EtG tespiti mümkündür. Tüketilen alkol miktarına göre idrar örneklerinde birkaç gün süre zarfında da EtG tespit edilebilmektedir (Dasgupta, 2015; Hoiseth vd., 2007).

Etil sülfat (EtS), etanole sülfotransferaz enzimi tarafından sülfat grubu eklenmesi sonucu oluşan oksidatif olmayan bir etanol metabolitidir. Kimyasal formülü $C_2H_6O_4S$. Etanol verilen sıçanlarda EtS, ilk kez 1959 yılında tespit edilmiştir (Heier vd., 2016). EtS'nin etanol metaboliti olarak insanlarda alkol tayin biyobelirteci olarak kullanılabilirliğinin tespiti ve tayin yöntemi son 20 yılda yapılan çalışmalarla ortaya çıkmıştır (Schneider ve Glatt, 2004; Wurst vd., 2006). EtS'nin belirteç olarak kullanımı ve farklı biyolojik örneklerde tayin edilebilir olmasının yanı sıra kanda kısa sürede tespit edilebilirliği ve idrarda uzun tespit aralığına sahip olması EtG ile benzerlik göstermektedir. Literatürde sıklıkla bu iki parametre birlikte çalışılmakta ve birbirilerini destekler nitelikte sonuçlar vermektedir. Öte yandan ileri seviye pütrifikasyonun olduğu postmortem vakalarda kan EtG analizi ile tek başına elde edilecek sonucun hatalı negatif veya pozitif olma potansiyeli taşıması nedeniyle EtS ile birlikte analizi önerilmektedir (Hoiseth vd., 2010; Hoiseth vd., 2008).

1.5. Alkol Tayininde Kullanılan Biyolojik Örnekler

Adli analizlerde amaca uygun bir çalışmanın gerçekleştirilmesi öncelikle uygun örnek seçimine, doğru örneklendirmeye, uygun koşullarla saklanmaya ve transfere bağlıdır. Hem antemortem hem de postmortem analizlerde zaman kritik önem taşımaktadır (Gürler, 2018; Kugelberg ve Jones, 2007).

Alkol tayininde en çok tercih edilen biyolojik materyal sıklıkla kan ve idrar örnekleri olmakla birlikte pek çok vücut sıvısında ve dokusunda alkol tayini yapılabilmektedir. Ancak analizin antemortem mi postmortem mi yapılacağı, postmortem ise kontaminasyon ve dekompozisyon durumu biyolojik örnek seçimini etkileyen faktörler arasında sayılabilir. Kan hem antemortem hem de postmortem analiz için ilk tercih edilen biyolojik materyaldir. Rutin olarak periferik kan örneği alınmakla birlikte, postmortem vakanın durumuna göre femoral, subklavyen, kalp kanı alınabilmektedir (Gürler, 2018; Olds ve Jones, 2024; Yeter, 2018).

İdrar, ana madde ve metabolitleri içerirken büyük molekülleri (lipid, protein vb.) içermeyen, toplanması diğer biyolojik materyallere kıyasla kolay olan hem antemortem hem de postmortem analizler için uygun bir vücut sıvısıdır. Antemortem idrar örneği toplanması aşamasında hileye imkan vermeyecek önlemlerin alınması gerekmektedir. Öte yandan postmortem analiz için mesaneden alınan idrar örneği kullanılmaktadır (Al-Asmari vd., 2022; Gürler, 2018; Jolma vd., 2023; Yeter, 2018). Postmortem ileri pütrifikasyon görülen vakalarda EtG seviyesine yönelik yapılan bir çalışmada, kan örnekleri etanol pozitif EtG negatif olan 15

postmortem vakadan 6'sının idrar örneklerinde EtG tespit etmiş olup bu vakalarda görülen ileri pütrifikasyon nedeniyle alkol tüketimine rağmen kanda EtG degredasyonu nedeniyle tespitinin mümkün olmayabileceği belirtilmiştir. Bununla birlikte, EtG'nin idrarda kandan daha geç elimine olabileceği ihtimaline de dikkate çekilmiş ve ileri pütrifikasyon durumunda ek parametre ve/veya biyolojik materyalin de değerlendirilmesinin önemli olacağı vurgulanmıştır (Hoiseth vd., 2008).

Saç, ortalama olarak ayda 1 cm uzamakta olup uzunluğa bağlı olarak aylar öncesine kadar bilgi sağlama potansiyeli olan hem antemortem hem de postmortem analizler için uygun bir materyaldir. Analiz için mümkün mertebe deriye en yakın noktada saçın kesilmesi analiz sonucu açısından önem arz etmektedir (Gürler, 2018; Susse vd., 2010; Yeter, 2018).

Tırnak, ortalama olarak ayda 3-5 mm uzamakta olup tam bir tırnak 3-6 ay arasında yenilenmektedir. Cinsiyetler arasında uzama hızı bakımından farklılık bulunmamaktadır (Gürler, 2018). Tırnak alkol tayininde primer bir materyal olmamakla birlikte farklı gruplarda yapılan çalışmalar bulunmaktadır (Arnts vd., 2021; Berger vd., 2014; Triolo vd., 2022).

Mekonyum, gebeliğin 12. haftası itibariyle oluşmaya başlamaktadır. Bağırsağın ilk içeriği olan mekonyum yapısında amnion sıvı, proteinler, yağlar, epitel hücreler, mukopolisakkaritler ve ince neonatal tüyler bulunmaktadır (Gürler, 2018; Yeter, 2018). Mekonyum fetal dönemde maruz kalınan alkol, madde, ilaç ve kimyasallar bakımından annenin biyolojik materyallerinden daha fazla bilgi sağlamaktadır (Henderson vd., 2023).

Vitröz sıvı, kontaminasyondan ve mikrobiyal faaliyetlerden diğer vücut sıvılarına nazaran daha az etkilenmektedir. Postmortem alkol tayininde özellikle dekompozisyon söz konusu olduğu vakalarda kıymetli bir analiz materyali olup postmortem endojen alkol oluşumu ile antemortem alkol tüketimi ayrımında kullanılmaktadır (Savini vd., 2020; Yeter, 2018).

Beyin omurilik sıvısı, vitröz sıvı gibi kontaminasyona ve mikrobiyal faaliyetlere karşı korunaklı bir biyolojik materyaldir. Postmortem alkol tayini için ileri dekompozisyon görülen vakalarda kullanılmaktadır (Wachholz vd., 2023; Yeter, 2018).

Postmortem analizlerde öncelikle tercih edilen vücut sıvılarının alınamaması durumunda kas, karaciğer, dalak gibi çeşitli doku ve organlar analiz için kullanılabilmektedir.

Doku ve organların seçiminde öncelikle kontaminasyondan ve dekompozisyondan uzak olanlar tercih edilmektedir (Kugelberg ve Jones, 2007).

1.6. Alkol Tayininde Biyolojik Örnek Stabilitesi

Uluslararası Standartlar Teşkilatı (ISO) tarafından hazırlanan güncel terimler ve tanımlar rehberine göre belirli koşullar altında saklanan bir materyale ait özelliğin belirli süre boyunca belirli limitlerde sürdürülmesi stabilite olarak tanımlanmaktadır (ISO, 2015). En genel anlamıyla dayanıklılık veya kararlılık olarak da ifade edilebilen stabilite pozitif bilimler için önemli bir parametredir. Biyokimyasal ve toksikolojik analizlerde ölçülecek analitin hangi koşullar altında ne kadar süre stabil olduğunun bilinmesi güvenilir ve kabul edilebilir tanı, teşhis, tedavi vb. çalışmalar için gereklidir. Bu noktada alkol tayini için kullanılan biyolojik örneklerin hangi koşullarda saklama ile ne kadar süre analiz için stabil olduğu genel hatlarıyla bilinmektedir. Adli analizlerde örnek stabilitesini saklama koşulu, saklama süresi, matriks etkisi, saklanan kabın/tüpün özellikleri yanı sıra örnek alınan kişinin içinde bulunduğu adli olay öyküsü de etkileyebilir.

Biyolojik materyal stabilitesinin sağlanması için sodyum florür (NaF) gibi koruyucu içeren tüplerin kullanılması genel olarak önerilmekle birlikte, özellikle alkol tayininde tüketimden bağımsız alkol oluşumu etkisini engellenmek ve elimine etmek için önem taşımaktadır (Bujaroska vd., 2022).

İdrar örneklerinin farklı saklama koşullarında stabilitesini renal glukozüri, idrar yolu enfeksiyonları, kandidüri gibi mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyon durumu etkilemektedir (Thorburn Burnsa ve Walker, 2020). Enfeksiyona neden olan bu yaygın hususların önlenmesi adına idrar örneklerinin alkol tayininde sodyum florür içeren tüplere alınması örnek stabilitesi ve alkol oluşumunun önlenmesi adına önerilen hususlardandır (Jones, 2006; Olds vd., 2023). Biyolojik örneklerde alkol tayini için örnek stabilitesi amacıyla yapılan çalışmaların kısa özeti Çizelge 1.4.'te verilmiştir (Nisbet vd., 2023).

Çizelge 1.4. Alkol stabilite çalışmaları

Biyolojik Örnek	Saklama Süresi ve Saklama Koşulu	Stabilite Sonucu
Antemortem Kan	4 Hafta 4^0C	BAC anlamlı bir değişim görülmemiş olup stabil bulunmuştur (Olds vd., 2023).
	12 Ay 4^0C	BAC anlamlı bir azalma olduğu tespit edilmiştir (Olds vd., 2023).
	28 Gün 38^0C Açılmamış tüp	Düşük seviyede BAC düşüşü gözlenmiş ancak stabil bulunmuştur (Shan vd., 2011).
	6 Ay Oda sıcaklığı Önceden açılmış ve açılmamış tüp	Açılmış tüplerde yüksek seviyede BAC düşüşü gözlenmiş olup değişken bulunmuştur (Shan vd., 2011).
	29 Hafta Oda sıcaklığı C.albicans inoküle edilen NaF içeren ve içermeyen tüp	Stabil bulunmamıştır (Laurens vd., 2018).
	14 Gün Oda sıcaklığı Koruyucu içermeyen, kEDTA veya NaF/ potasyum oksalat koruyucu içeren tüp	Stabil bulunmamıştır (Mandic-Radic vd., 2007).
	18 Hafta Oda sıcaklığında	Stabil bulunmuştur (Shajani vd., 1989).
	3-6,75 Yıl Oda sıcaklığında	Stabil bulunmamıştır (Chang vd., 1984).
	5,6 ve 10,5 Yıl Oda sıcaklığı A: açılmış B: açılmamış tüp	A Stabil bulunmamış iken B Stabil bulunmuştur (Tiscione vd., 2015).
	3 Ay 4^0C Koruyucu içermeyen ve kEDTA veya NaF/ potasyum oksalat koruyucu içeren tüp	Stabil bulunmuştur (Mandic-Radic vd., 2007).
	39 Hafta 4^0C	Stabil bulunmuştur (Shajani vd., 1989).
	13-39 Ay 4^0C Önceden açılmış ve açılmamış tüp	Açılmış tüplerde yüksek seviyede BAC düşüşü gözlenmiş olup değişken bulunmuştur (Shan vd., 2011).
	29 Hafta 4^0C C.albicans inoküle edilen NaF içeren ve içermeyen tüp	Stabil bulunmuştur (Laurens vd., 2018).
	6 Ay -20^0C Koruyucu içermeyen ve kEDTA veya NaF koruyucu içeren tüp	Stabil bulunmuştur (Mandic-Radic vd., 2007).
	6 Ay -20^0C	Stabil bulunmuştur (Meyer vd., 1979).
Postmortem Kan	5-6 Yıl Soğutucu NaF ve potasyum oksalat koruyucu içeren tüp	Stabil bulunmamıştır (Olsen ve Hearn, 2003).
	191-468 Gün -20^0C NaF koruyucu içeren tüp	Genel olarak stabil iken bazı örnekler değişken bulunmuştur (Sutlovic vd., 2014).

Çizelge 1.4. (devam) Alkol stabilite çalışmaları

Biyolojik Örnek	Saklama Süresi ve Saklama Koşulu	Stabilite Sonucu
Plazma	5 Ay -20^{0}C	Stabil bulunmuştur (Kocak vd., 2015).
Serum	35 Gün 26,7-37,8^{0}C	Stabil bulunmuştur (Winek vd., 1996).
Vitröz Sıvı	5-6 Yıl Soğutucu NaF ve potasyum oksalat koruyucu içeren tüp	Stabil bulunmuştur (Olsen ve Hearn, 2003).
İdrar	14 gün Oda sıcaklığı Koruyucu içermeyen tüp	Stabil bulunmamıştır (Mandic-Radic vd., 2007).
	3 Ay 4^{0}C Koruyucu içermeyen tüp	Stabil bulunmuştur (Mandic-Radic vd., 2007).
	12 Ay -10^{0}C Hava geçirmez ve açılmış dondurulmuş/çözülmüş	Stabil bulunmuştur (Neuteboom ve Zweipfenning, 1989).
	6 Ay -20°C Koruyucu içermeyen tüp	Stabil bulunmuştur (Mandic-Radic vd., 2007).

Post-mortem kan örneklerinin etanol negatif, etanol eklenen ve etanol pozitif olarak gruplandırıldığı ve her grupta 6 numune yer alan aldığı bir çalışmada numuneler 7 gün boyunca 37°C, 25°C, 4°C ve -20°C sıcaklıkta saklanırken her 24 saatte EtG, EtS, PEths ve YAEE analizi gerçekleştirilmiş; 37°C'de etanol eklenerek saklanan grupta EtG tespit edilmiştir. 37°C ve 25°C'de saklanan etanol pozitif grupta EtG seviyesinde azalma olduğu belirlenmiştir. EtS seviyesinin ise hiçbir grupta değişiklik göstermediği sapmıştır. PEth, etanol eklenerek saklanan tüm gruplarda oluşum göstermiş iken etanol pozitif gruplardan 37°C'de dalgalanma, 25°C'de azalma ve -20°C'de artış göstermiştir. Etanol negatif ve etanol eklenen grupların tümünde YAEE üretilmiş iken etanol pozitif 37°C ve 25°C'de saklanan gruplarda YAEE seviyesinde azalma, 4°C ve -20°C'de saklanan gruplarda YAEE seviyesinde artış tespit edilmiştir (Liu vd., 2018).

Oda sıcaklığında 4 günden fazla saklanan idrar örneklerinde EtG seviyesinin stabil olduğu tayin edilmiştir (Stephanson vd., 2002). -20°C'de 4 hafta saklanan idrar örneklerinde EtG ve EtS seviyesinde %10'dan az azalma tespit edilmiş iken örneklerin bu koşullarda söz konusu analiz açısından stabil kaldığı belirtilmiştir (Politi vd., 2005). Hava geçirmez tüpte 4°C'de beş hafta boyunca saklanan idrar örneklerinde EtG'nin stabil kaldığı bildirilmiş iken hava geçiren tüplerde oda sıcaklığı gibi yüksek sıcaklıklarda beş hafta boyunca saklanan örneklerde EtG konsantrasyonunun %37,5 arttığı tespit edilmiştir. Öte yandan dört hafta

boyunca oda sıcaklığında saklanan, kan alkol konsantrasyonu pozitif olan kişilere ait karaciğer ve iskelet kas örneklerinde EtG konsantrasyonunun %27,7 oranında azaldığı saptanmıştır (Schloegl vd., 2006).

İdrar yolu enfeksiyonu tanısı alan ve idrar yolu enfeksiyonlarında yaygın patojenlerden *E. coli, Enterococcus sp., Grup B streptokok, K.pneumoniae, Proteus mirabilis, P. Aeruginosa, S. Saprophyticus, Citrobacter freundii, E. cloacae, E. aerogenes, Morganella morganii* varlığı tespit edilen kişilerin idrar örneklerinde söz konusu bu patojenlerin EtG ve EtS analiz sonucuna etkisini tayin amacıyla gerçekleştirilen çalışmada, *E.coli* tespit edilen örneklerde EtG'nin bakteriyel hidrolize duyarlı olduğu belirlenmiştir. Koruyucu olmaksızın 22ºC'de saklanan örneklerde 5 gün sonunda EtG'nin tamamen hidrolize olduğu ancak koruyucu olarak NaF içeren örneklerin EtG konsantrasyonlarında değişiklik olmadığı saptanmıştır. Öte yandan koruyucu içeren veya içermeyen tüplerde saklanan idrar örneklerinin EtS konsantrasyonlarının stabil olduğu belirlenmiştir (Helander ve Dahl, 2005). 5 gün alkol tüketmemiş 3 gönüllüden alınan ve filtrelenerek bakteriden arındırılan idrar örnekleri haricen EtG ve EtS eklendikten sonra porsiyonlara ayrılmış ve her bir porsiyona 10^3 cfu/ml *E.coli* eklenen bir çalışmada, örnekler koruyucu olarak klorheksidin, timol, borik asit ile klorheksidin, etil paraben ve sodyum propiyonat kombinasyonu ile muamele edilmiş ve 9 gün boyunca farklı koşullarda (4-8ºC, 17-19ºC ve 35-37ºC) saklanmıştır. Klorheksidin ve klorheksidin içeren kombinasyon ile borik asit idrar EtG ve EtS konsantrasyonu için iyi bir koruyucu olarak tespit edilmişken, timol ile muamelede EtG degredasyona uğradığı saptanmıştır. Bu çalışma sonucu özellikle soğuk zincirin sağlanamamasına bağlı örneklerdeki bozulmanın önüne geçmek için koruyucu madde kullanmanın önemli olduğunu göstermiştir (Thierauf vd., 2008).

Oda sıcaklığında 20 güne kadar saklanan idrar örneklerinde EtS seviyesinin stabil olduğu belirlenmiştir (Dresen vd., 2004). İdrar örneklerinin 3 haftadan uzun süre 4ºC'de saklanması halinde EtS'nin EtG'ye göre daha stabil olduğu tespit edilmiştir (Wurst vd., 2006).

1.7. Adli Amaçlı Alkol Tayini ve Şahit Numune

Ülkemizde trafik denetimlerinde alkolmetre ile gerçekleştirilen nefes alkol testi dışındaki alkol tayini rutin olarak kan analizi ile yapılmaktadır. Rutin kan alkol analizinin tıbbi laboratuvarlarda ve adli tıp kurumuna bağlı birimlerde gerçekleştirilmesinde izlenecek prosedürler kapsamlı olarak mevzuatta belirlenmiştir.

Tıbbi Laboratuvar Yönetmeliği Madde 12 (14) *"yasadışı ve kötüye kullanılan ilaç ve maddelerin analizini yapan tıbbi laboratuvarlar ile alkol ve madde bağımlılığı tedavi merkezlerindeki tıbbi laboratuvarların çalışma usul ve esasları Bakanlıkça belirlenir"* (Tıbbi Laboratuvar Yönetmeliği, 2013) uyarınca T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Tetkik ve Teşhis Hizmetleri Dairesi Başkanlığı tarafından yayınlanan 2017/12 Genelgesi ile "Tıbbi Laboratuvarlarda Kan Numunelerinde Etanol Analizi İşlemlerinin Usul ve Esasları" belirlenmiştir.

Tıbbi Laboratuvarlarda Kan Numunelerinde Etanol Analizi İşlemlerinin Usul ve Esasları'nda kan örneklerinde etanol analizinin preanalitik, analitik, postanalitik ve doğrulama aşamaları ayrıntılı olarak açıklanmış ve şahit numune tanımlanarak saklama süresi ve koşulu belirtilmiştir. Buna göre şahit numune *"analiz sonrası olası bir doğrulama ihtiyacına karşı, tekrar analiz amacıyla, test numunesi ile eş zamanlı ancak farklı tüplere alınan ve uygun koşullarda saklanan kan numunesi"* olarak tanımlanmıştır. Bununla birlikte, şahit numunenin en az 6 ay süre ile en az < -20°C kilitli/güvenli dondurucuda saklanması gerektiği bildirilmiştir. Ayrıca, tıbbi laboratuvarlarda yapılan analize savcılık kanalıyla yapılan itiraz için doğrulamanın Adli Tıp Kurumu tarafından yapılacağı belirtilmiştir (Tıbbi Laboratuvarlarda Kan Numunelerinde Etanol Analizi İşlemleri Genelgesi 2017).

Adli Tıp Kurumu Kanunu Uygulama Yönetmeliği'nde alkol analiz ve raporlama işlemlerinin detaylarına yer verilmiştir (Adli Tıp Kurumu Kanunu Uygulama Yönetmeliği, 2004). Adli Tıp Kurumu Alkol Birimi tarafından örnek kabul koşulları için numune alım ve laboratuvara gönderim detayları belirlenmiş olup antemortem bir analiz için en az 2'şer ml olmak üzere 3 tüp kan alınması; 2 tüp örneğin analiz için Adli Tıp Kurumuna gönderilmesi, diğer örneğin ise kanı alan kurumda şahit numune olarak saklanması gerektiği bildirilmiştir (Adli Tıp Kurumu Alkol Birimi Kan Örneği Kabul Koşulları, 2024) . Postmortem alkol analizi için kanın femoral venden alınması gerektiği vurgulanmıştır (Delil Teslim Prosedürleri, 2024).

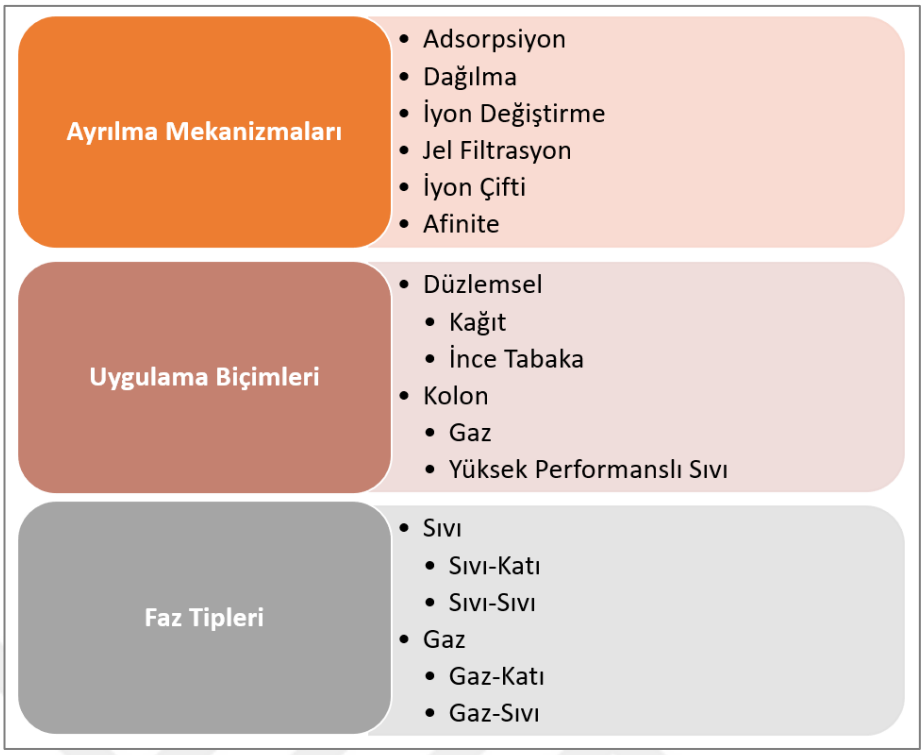
Şahit numune uygulaması gıda, ilaç, çevre denetimi gibi pek çok farklı alanda kullanılan ortak bir terminoloji olmakla birlikte, test numunesi yanı sıra yedek olarak alınan şahit numunenin amacı ihtiyaç halinde test tekrarı için ana test numunesi ile aynı koşullarda ve zamanda alınması yönüyle de ortaktır. Adli amaçlı alınan şahit numuneler konunun suç ve ceza boyutu nedeniyle hayati önem taşımaktadır. Şahit numune zehirlenme vakalarında da önem teşkil etmekte olup zehirlenme sonrası tıbbi müdahaleye rağmen ölüm ile sonuçlanan vakaların, postmortem analizlerinin yeterli olmadığı durumlarda şahit numunenin analizi

aydınlatıcı bir rol oynamaktadır (Ata Öztürk vd., 2023). Kan örneklerinin farklı koşullarda ve sürelerde saklanmasının etanol düzeylerini nasıl etkilediği hususunda çeşitli çalışmalar mevcuttur. Çalışmaların vardığı ortak nokta, saklama koşulunun yanı sıra tüpün kan alımı ile analiz arasında açılıp açılmaması, tüpteki kan hacmi, etanol seviyesi gibi çeşitli durumlardan etkilendiğini göstermektedir (Saracevic vd., 2014; Tiscione vd., 2015). Öte yandan 4ºC'de 1-4 hafta (Olds vd., 2023), -20ºC'de 3-4 ay (Kocak vd., 2015), -80ºC'de 6 aydan daha uzun (Erdogan vd., 2018) saklanabileceğini gösteren çalışmalar da mevcut olmakla birlikte, saklama boyunca etanol seviyesinde düşüş olduğu bildirilen çalışmalar da mevcuttur (Vance vd., 2015). Ayrıca, numunenin cam veya plastik tüpte saklanmasının analiz sonucuna etkisi olmadığı görülmüştür (Jones ve Ericsson, 2016).

1.8. Alkol Tayininde Kullanılan Yöntemler

Alkol tayininde kimyasal (difüzyon, distilasyon, oksidasyon), enzimatik, kromatografik ve spektroskopik olmak üzere çeşitli yöntemler kullanılmaktadır (Dubowski, 1980; Konopka, 2010; Lansdorp vd., 2019; Ozturk vd., 2022; Vural ve Saygı, 1981). Güncel uygulamada en çok kromatografik yöntemler tercih edilmektedir.

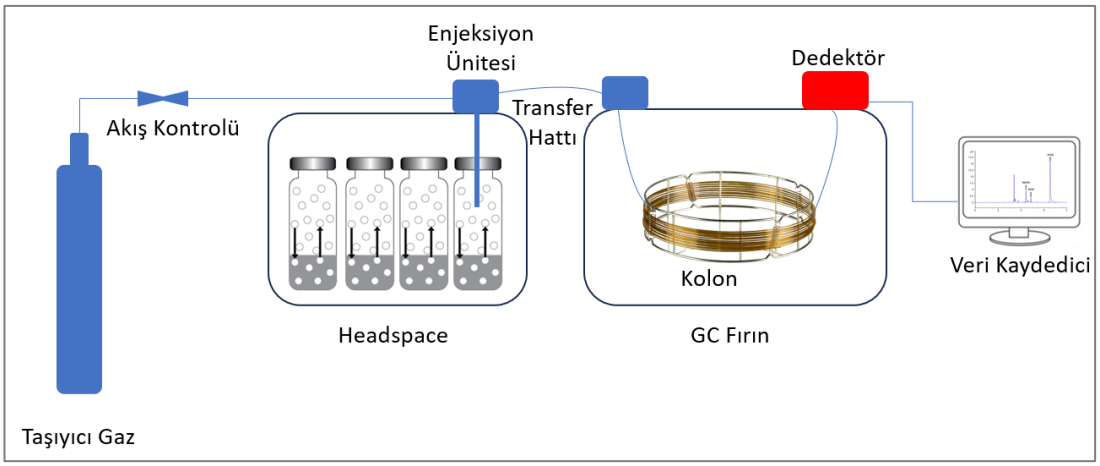
Kromatografi, bir karışımdaki maddelerin, fiziksel ve kimyasal özelliklerinden faydalanılarak biri sabit diğeri hareketli birbiri ile karışmayan iki faz ile ayrılması, tanımlanması ve saflaştırılması için kullanılan bir yöntemdir. Yöntemin temel prensibini karışımdaki maddelerin hareketli faz aracılığıyla sabit fazdan geçiş hızının farklı olması oluşturmaktadır (Coskun, 2016). Kromatografik yöntemlerin gruplandırılması ayrılma mekanizmalarına, uygulama biçimlerine ve faz tiplerine göre Şekil 1.3'te verilmiştir (Mercan ve Türkmen, 2023).



Şekil 1.3. Kromatografik yöntemler

1.8.1. Headspace Gaz Kromatografisi (HS-GC)

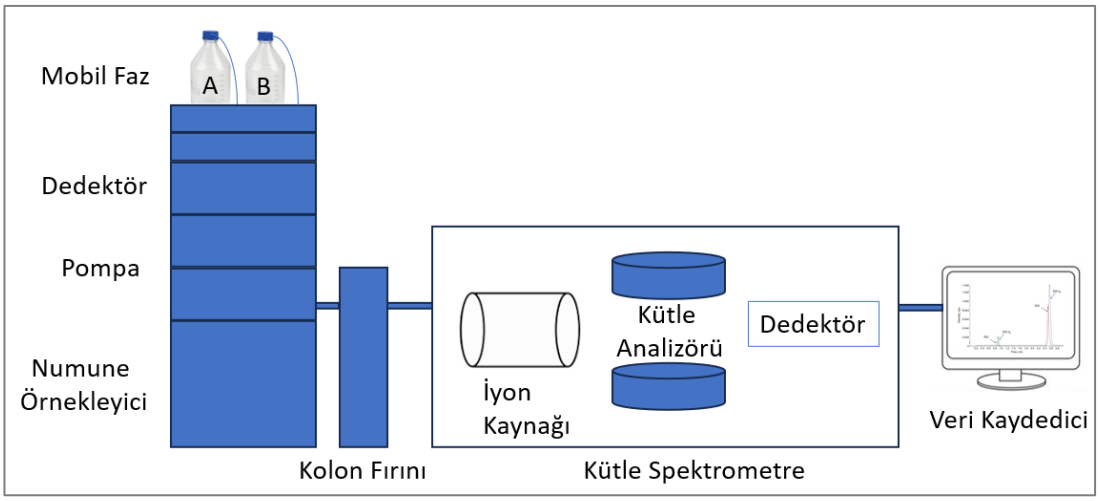
Gaz kromatografisi (GC), sabit bir fazdan analiti taşıyan mobil bir faz olarak inert veya reaktif olmayan helyum, azot, argon, hidrojen vb. gaz akımının geçişi ile uçucu bileşiklerin tutunma ve dağılım farkına göre ayrılması yöntemidir. GC sistemini taşıyıcı gaz, enjeksiyon ünitesi, kolon, dedektör ve veri kaydedici oluşturmaktadır (Şekil 1.4). Adli analizlerde etanol, metanol, izopropanol ve benzeri uçucu moleküllerin tayini için headspace gaz kromatografisi kullanımı yaygındır. Headspace gaz kromatografisi ile kalitatif ve kantitatif analiz yapılmaktadır. Headspace numunenin yerleştirildiği bir otoörnekleyicidir. Kan, idrar, vitröz sıvı, safra gibi sıvı formdaki numune, ekstraksiyon işlemi gerekmeksizin headspace ile analize alınmaktadır; headspace kısmında numune ısıtılır ve uçucu analitlerin gaz fazına geçmesi sağlandıktan sonra otomatik olarak gaz kromatografi kapiller kolonuna taşınarak sabit faza olan ilgisine göre ayrılmaktadır. Kantitatif analiz her numuneye iç standart eklenerek ve kalibrasyon grafikleri oluşturularak hesaplanmaktadır (Anthony vd., 1980).



Şekil 1.4. Headspace gaz kromatografisi

1.8.2. Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometrisi/Kütle Spektrometrisi (LC-MS/MS)

Sıvı kromatografisinin çalışma prensibi gaz kromatografisine benzerdir. Kullanılan mobil faz, gaz kromatografisinden farklı olarak sıvı formda çözücülerdir. Sıvı kromatografinin ayırma ve kütle spektrometrisinin kütle analizi özelliklerinin birleşimi olan sıvı kromatografi-kütle spektrometrisi, yüksek duyarlılık ve özgüllükte hem kalitatif hem de kantitatif analize imkan sağlayan bir yöntemdir. LC-MS/MS sistemini LC ünitesinde pompa, enjeksiyon bloğu, kolon ve dedektör; MS kısmında numuneleri iyonize eden iyon kaynağı, kütle analizörü ve dedektör oluşturmaktadır (Şekil 1.5). Sıvı kromatografisi ile numune bileşenlerine ayrılmakta analitler iyonlaştırılarak kütle spektrometrisine iletilmektedir. Burada iyonların kütle/yük oranı belirlenerek ardından analiz edilecek iyon filtreden geçip kollizyon hücresinde yüksek saflıkta argon gazı ile parçalanır ve oluşan iyonlar kütle/yük oranına göre ayrılarak dedektöre ulaşır ve böylece yüksek hassasiyetle güvenilir analiz gerçekleştirilir (Van Bocxlaer vd., 2000).



Şekil 1.5. Sıvı kromatografi-kütle spektrometrisi/kütle spektrometrisi

Bu tez çalışmasının amacı, alkol tüketen kişilerden alınan idrar örneklerinin bir yıl gibi uzun dönem saklanması sırasında ara analizlerle örneklerde etanol, etil glukuronid ve etil sülfat düzeylerinin tespit edilmesi olup söz konusu örneklerin ilgili parametreler açısından stabilitesinin değerlendirilmesi ve güvenli saklama süresinin belirlenmesidir. Adli olgularda aynı örneğin tekrar analizi gerekebilmekte olup özellikle soğuk zincirin korunamadığı örneğin analiz için başka merkeze transferinde veya aynı merkezde çeşitli aksaklıklarla don-çöz durumuna maruz kalmasının etanol ve etanol metaboliti olan etil glukuronid ve etil sülfat düzeylerine etkisinin belirlenmesi amacıyla bu çalışma planlandı.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

Tez çalışması, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Alt Etik Kurulu'nun 24/09/2019 tarih ve 16 sayılı toplantısının 264 sayılı kararı ile etik açıdan uygun bulunmuştur (Ek-1).

Çalışmaya akut veya kronik hastalığı olmayan ve en az 5 yıldır alkol tüketen 3 kadın 7 erkek toplam 10 sağlıklı gönüllü katılım sağlamış olup katılımcılardan aydınlatılmış onam formu alınmıştır (Ek-2). Katılımcıların yaş aralığı 25-72'dir. Katılımcıların yaş, kilo ve boy ortalamaları sırasıyla kadınlarda 40 yıl, 65 kg, 168 cm iken erkeklerde 44 yıl, 79 kg, 171 cm'dir. Katılımcılardan çalışma için örnek toplama öncesindeki 1 hafta alkol tüketmemeleri istenmiş olup başka bir diyet kısıtlaması uygulanmamıştır. Çalışma kapsamında 0.5 promil kan alkol konsantrasyonunu sağlayabilecek şekilde en az 3 kutu bira (%5, 40g etanol) tüketmiş gönüllülerden, alkol tüketimini müteakip 8-10 saat sonra idrar örnekleri toplanmıştır. 100 ml steril idrar kabına alınan örneklerin alkol tüketimini müteakip ilk 12 saat içinde etanol, EtG ve EtS analizi yapılmış olup her bir idrar örneğinden 10 ml falkona porsiyonlama yapılmıştır. İdrar örnekleri analiz zamanına kadar -20ºC'de saklanmış ve her analiz öncesi çözdürülüp sonra tekrar -20ºC'de saklanmaya devam edilmiştir. Örneklerde gerçekleştirilen analiz detayları Çizelge 2.1.'de verilmiştir.

Çizelge 2.1. İdrar örneklerinin zamana göre analiz detayları

Analiz Zamanı	Etanol	EtG	EtS
1.Gün	✓	✓	✓
3.Gün	✓	✓	✓
7.Gün	✓	✓	✓
1.Ay	×	✓	✓
3.Ay	×	✓	✓
6.Ay	×	✓	✓
9.Ay	×	✓	✓
12.Ay	×	✓	✓

2.1. Gereç

2.1.1. Kimyasallar

EtG, EtS, internal standartlar döteryum etiketli EtG D5 ve EtS D5 Lipomed firmasından; asetonitril, aseton, metanol, etanol, n-propanol Merck firmasından; 2-propanol

ve amonyum format Sigma Aldrich firmasından temin edilmiştir. Ultra saf su Mes Mp Minipure firmasının su sisteminden elde edilmiştir.

2.1.2. Cihazlar ve Sarf Malzemeler

Çalışma kapsamındaki analizlerde Agilent 7890B gaz kromatografisi ile kombine alev iyonizasyon dedektörü (FID), Agilent 7694E headspace örnekleyici, Agilent JveW DB-ALC1 (30m x 0.32mm x 1,80µm) ve DB-ALC2 kolon (30m x 0.32mm x 1,20µm), Shimadzu 8030 Plus tandem kütle spektrometresi (MS/MS) ile kombine Nexera XR LC-20 AD sıvı kromatografisi, Shim-Pack FC-ODS (150x2mm) C-18 kolonu, VWR vorteks, Nüve Santrifüj Cihazı, Fıratmed steril idrar kabı, İsolab headspace ve LC vialleri, İsolab vidalı ve klempli vial kapakları, İsolab eppendorf tüpü kullanılmıştır.

2.2. Enstrümental Koşullar ve Metot Validasyonu

Headspace gaz kromatografisine ilişkin parametreler Çizelge 2.2'de verilmiştir.

Çizelge 2.2. Headspace gaz kromatografisine ilişkin parametreler

Taşıyıcı Gaz	Helyum 20 cm^3/dk
Dedektör	FID
Dedektör Sıcaklığı	260°C
Dedektör Gazları	Hidrojen 30 cm^3/dk Kuru Hava 300 cm^3/dk
Mod	Split 20:1
Enjeksiyon Süresi	1 dk
Enjeksiyon Sıcaklığı	250°C
Sıcaklık Programı	Başlangıç Sıcaklığı 40 °C 260°C'ye kadar 37°C/dk artış
Vial Sıcaklığı	70°C
Döngü Sıcaklığı	80°C
Transfer Hattı Sıcaklığı	90°C

LC-MS/MS ile analizlerde aköz mobil faz (A) olarak saf suda 10 mM amonyum format ve organik mobil faz (B) olarak metanol kullanılmıştır. Kolon fırın sıcaklığı 40°C, enjeksiyon hacmi 10 µL ve akış hızı 0.4 ml/dk olarak belirlenmiştir. Çoklu reaksiyon izleme (MRM) modu kullanılarak optimizasyon gerçekleştirilmiştir. Analitlere ilişkin alıkonma zamanları (RT), Q1 ve Q3 iyonları ile çarpışma enerjileri Çizelge 2.3'te verilmiştir.

Çizelge 2.3. EtG ve EtS için MRM parametreleri

Analit	+/-	RT(dk)	Q1(m/z)	Q3(m/z)	CE(V)
EtG	-	0.388	221.20	75.20	14.0
EtG-d5	-	0.383	226.20	85.20	18.0
EtS	-	0.372	124.90	97.10	17.0
EtS-d5	-	0.367	130.20	80.10	31.0

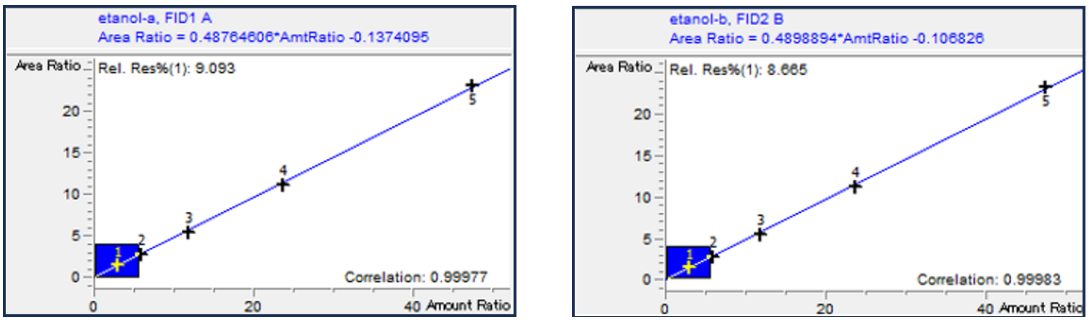
Validasyon yani geçerli kılma, amaca uygun yöntem veya ölçüm prosedürünün objektif testlerle belirlenmesi olup hedef söz konusu yöntem veya ölçüm prosedürünün kanıta dayalı olarak başarıyla gerçekleştirilebildiğinin gösterilmesidir (SWGTOX, 2013). Verifikasyon yani doğrulama ise standart olan bir yöntem uygulanmadan önce mevcut laboratuvar ortamında uygulanabilirliğinin gösterilmesidir. Validasyon parametrelerine ilişkin tanımlamalar çizelge 2.4'te verilmiştir (Eurochem, 2014; Mercan ve Türkmen, 2023; SWGTOX, 2013).

Çizelge 2.4. Validasyon parametreleri ve tanımları

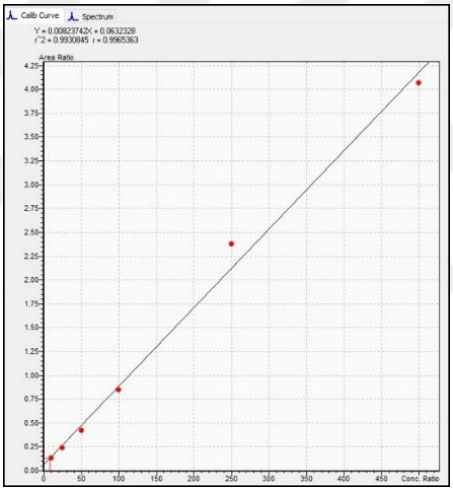
Doğruluk	Analiz sonucu değer ile referans değerin yakınlığıdır.
Ölçüm Aralığı	Yöntemin/ölçüm prosedürünün kullanılabileceği çalışma aralığıdır.
Doğrusallık	Konsantrasyona bağlı olarak dedektör yanıtının orantılı artmasıdır. Kalibrasyon eğrisi ile ifade edilmektedir.
Kesinlik	Analiz sonuçlarının tekrarlanabilirliği ve tekrar üretilebilirliğidir.
Seçicilik	Analitin ortamdaki diğer bileşenlerden etkilenmeksizin tayin edilebilmesidir.
Sürüklenme	Başka bir analiz veya analit nedeniyle mevcut analizin kirlenmesi veya etkilenmesidir.
En düşük tespit sınırı (LOD)	Kalitatif olarak tespit edilebilen en düşük konsantrasyondur.
En düşük miktar belirleme sınırı (LOQ)	Kantitatif olarak kabul edilebilir olarak miktarı belirlenebilen en düşük konsantrasyondur.

Kantitatif analizler için kalibrasyon işleminde derişimi bilinen analitin ölçümü ile elde edilen yanıta ihtiyaç duyulmakta olup aynı analitin farklı derişimleri ile elde edilen yanıtların bir bütün olarak değerlendirilmesi sonucu kalibrasyon grafiği elde edilmektedir. Böylece miktarı bilinmeyen analitin ölçüm sonucunu veren konsantrasyon değeri kalibrasyon grafiği ile tespit edilebilmektedir. Ayrıca kalibrasyon grafiği doğrusallık, ölçüm aralığı, kesinlik, en düşük tespit sınırı ve en düşük miktar belirleme sınırı için de belirlenmesi gereken önemli bir parametredir. EtG ve EtS kalibrasyon grafiği için 10-500 ng/ml aralığında olmak üzere altı farklı konsantrasyonda, etanol için ise 23.7-379.2 mg/dl aralığında beş farklı konsantrasyonda kalibrasyon çözeltileri hazırlandı ve her birinin en az iki tekrarlı analizi ile metot kalibrasyon grafikleri elde edildi (Şekil 2.1, 2.2, 2.3). Ultra saf su ile negatif kontrol numunesi hazırlandı. Standart maddelerle kalibratörlerden farklı olarak pozitif kalite kontrol numuneleri hazırlandı

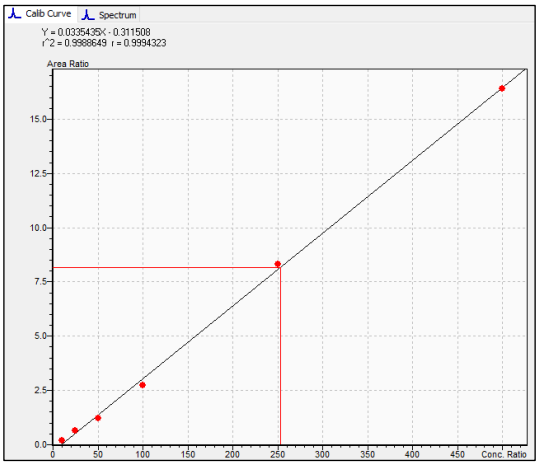
ve validasyon çalışmalarında kullanıldı; etanol için 2 farklı konsantrasyonda (23.7 ve 379.2 mg/dl) EtG ve EtS için 3 farklı konsantrasyonda (25, 100, ve 250 ng/ml). 100ppb konsantrasyonda internal standart kromagramları Şekil 2.4'te verilmiştir.



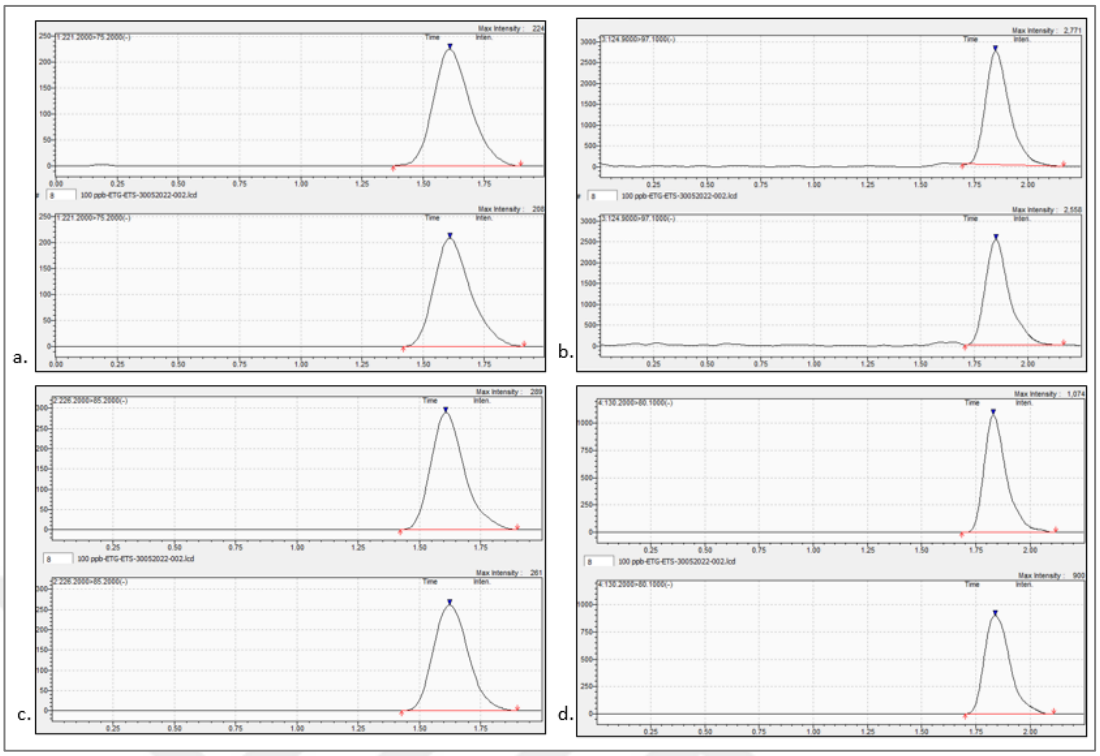
Şekil 2.1. Etanol kalibrasyon grafikleri



Şekil 2.2. EtG kalibrasyon grafiği



Şekil 2.3. EtS Kalibrasyon grafiği



Şekil 2.4. İnternal standart kromatogramları (100ppb) a. EtG b. EtS c.EtG-D5 d.EtS-D5

Uluslararası adli toksikoloji metot validasyon rehberine (SOFT/AAFS, SWGTOX) göre validasyon parametreleri olarak kullanılan en düşük tespit sınırı (LOD), en düşük miktar belirleme sınırı (LOQ), ölçüm aralığı ve doğrusallık ile doğruluk (Bias) ve tekrarlanabilirlik (RSD) (1-7 gün arasında gün içi ve günler arası beş tekrarlı analiz) çalışmaları yapıldı. Tüm parametreler için sonuçlar kabul edilebilir seviyede (EtOH <10%, EtG, ETs < 20%) tespit edildi. Sürüklenme ve interferansa rastlanmadı. Sonuçların ortalama değerleri Çizelge 2.5'te verilmiştir.

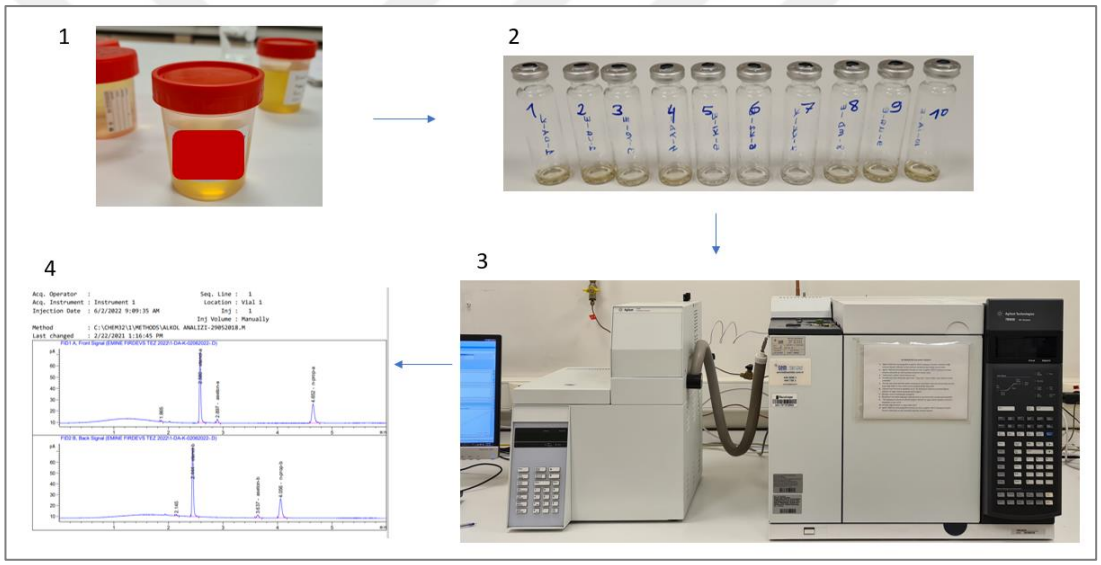
Çizelge 2.5. Analitlere ait validasyon sonuçları

Analit	Konsantrasyon	RSD (%)	BIAS (%)	LOD	LOQ	r^2
Etanol	23.7 (mg/dl)	1.17	2.87	1.34 mg/dl	4.5 mg/dl	0.9998
	379.2 mg/dl)	5.00	1.03			
EtG	25 (ng/ml)	4.24	-4.90	3.46 ng/ml	10.51 ng/ml	0.9930
	100 (ng/ml)	6.84	18.38			
	250 (ng/ml)	8.98	7.77			
EtS	25 (ng/ml)	2.40	3.66	3.67 ng/ml	11.14 ng/ml	0.9988
	100 (ng/ml)	3.91	1.22			
	250 (ng/ml)	0.44	5.66			

2.3. Yöntem

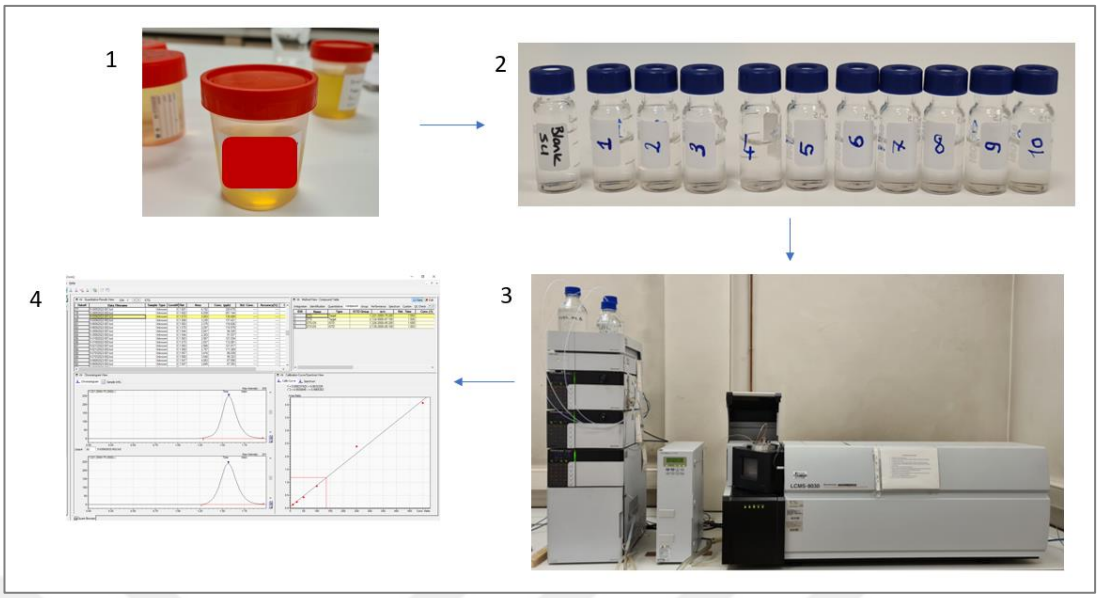
Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Alt Etik Kurulu'nun 24/09/2019 tarih ve 16 sayılı toplantısının 264 sayılı kararı ile etik açıdan uygun bulunan bu tez çalışması kapsamında, 10 gönüllü katılımcıdan temin edilen idrar örnekleri analiz edildi.

Etanol düzeyinin tayini için öncelikle idrar numunesi vortekslendi; 0.8 ml idrar örneği, 10 ml'lik headspace viali içine alınarak üzerine 0.2 ml internal standart eklenerek kapağı kapatıldı ve cihaza yerleştirildi (Şekil 2.5). 10 ml falkona porsiyonlanan idrar numunesi işlem sonunda -20ºC'de saklandı ve sonraki analizde porsiyonlanan idrar numunesi oda sıcaklığında çözündükten sonra aynı işlemlerle analiz gerçekleştirildi.



Şekil 2.5. Headspace gaz kromatografisi ile etanol tayini

EtG ve EtS düzeylerinin tayini için ilk aşamada idrar numunesi vortekslendi; 0.2 ml idrar örneği ve 0.2 ml asetonitril eppendorf tüpe alındıktan sonra 14 000 rpm'de 5dk santrifüj edildi. Kromatografi vialine 0.7 ml ultra saf su, 0.2 ml santrifüj edilen örneğin süpernatantı ve 0.1 ml internal standart ilave edilerek vortekslendikten sonra cihaza yerleştirildi (Şekil 2.6). EtG ve EtS sonuçları 500 ng/ml üzerinde olan numuneler, dilüe edilerek (10 kat) tekrar çalışıldı ve sonraki analizlerde de aynı dilüsyon oranı uygulanarak ölçümler yapıldı. Bu sayede metodun kalibrasyon aralığında ve kabul edilebilir RSD ve Bias değerlerinde çalışmalar sürdürülmüştür.



Şekil 2.6. LC-MS/MS ile EtG ve EtS tayin

2.4. İstatistiksel Analiz

Tez çalışması kapsamında elde edilen verilerin değerlendirilmesi için SPSS 11.5 for Windows programı kullanıldı. Frekans, ortalama, standart sapma ve ortanca (minimum-maksimum) tanımlayıcı istatistikler olarak verildi. Gerçekleştirilen ölçümlere ilişkin veriler için parametrik olmayan Related-Samples Friedman's Two-Way Analysis of Variance by Ranks ve ölçümlerin ikili analizi için parametrik olmayan Wilcoxon Signed Ranks Test kullanıldı. Ayrıca analiz edilen parametreler arasındaki ilişki için parametrik olmayan korelasyon analizi yapıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0,05$ olarak kabul edildi.

3. BULGULAR

Tez çalışması kapsamında 10 sağlıklı gönüllüden alkol tüketimi sonrası alınan idrar örnekleri etanol, etil glukuronid ve etil sülfat parametreleri açısından farklı zaman dilimlerinde analiz edilmiştir. Üç kadın ve 7 erkek katılımcı grubun tanımlayıcı verileri Çizelge 3.1, 3.2 ve 3.3'te verilmiştir.

Çizelge 3.1. Katılımcılara ilişkin çalışmanın tanımlayıcı verileri

	Yaş	**Etanol 1.Gün (mg/dl)**	**Etanol 3.Gün (mg/dl)**	**Etanol 7.Gün (mg/dl)**
N	10	10	10	10
Ortalama	42,7	26.273,90	20.848,90	21.255,80
Standart Sapma	13,58	25.101,10	17.744,14	18.033,89
Ortanca	42	28.226,00	29.451,00	30.640,50
Minimum	25	0	0	0
Maksimum	72	64.449,00	43.183,00	42.815,00

Çizelge 3.2. Katılımcıların EtG (ng/ml) ile ilişkili verileri

	EtG 1.Gün	**EtG 3.Gün**	**EtG 7.Gün**	**EtG 1.Ay**	**EtG 3.Ay**	**EtG 6.Ay**	**EtG 9.Ay**	**EtG 12.Ay**
Ortalama	3.311,11	2.540,85	2.717,45	2.984,60	3.063,00	2.642,30	2.385,25	2.124,10
Standart Sapma	3.823,26	3.291,35	3.534,98	4.108,59	4.107,70	3.469,44	3.095,94	2.763,91
Ortanca	928,00	841,75	841,25	847,00	858,75	787,00	763,75	642,50
Minimum	287	93,00	98,00	83,00	91,50	68,50	78,50	58,50
Maksimum	8.895,00	8.683,00	8.872,00	11.542	10.791,50	7.985,00	7.233,00	6.718,00

Çizelge 3.3. Katılımcıların EtS (ng/ml) ile ilşkili verileri

	EtS 1.Gün	**EtS 3.Gün**	**EtS 7.Gün**	**EtS 1.Ay**	**EtS 3.Ay**	**EtS 6.Ay**	**EtS 9.Ay**	**EtS 12.Ay**
Ortalama	1.141,55	897,85	863,20	875,45	831,75	1.030,80	821,90	701,40
Standart Sapma	1.388,53	1.181,48	1.150,22	1.143,65	1.098,39	1.364,72	1.091,74	930,89
Ortanca	352,00	247,25	221,75	232,50	212,00	268,25	212,00	182,25
Minimum	126,00	58,00	59,00	51,00	54,50	54,00	47,00	43,00
Maksimum	3.388,50	2.941,50	2.992,00	2.698,00	2.692,50	3.141,00	2.633,50	2.203,50

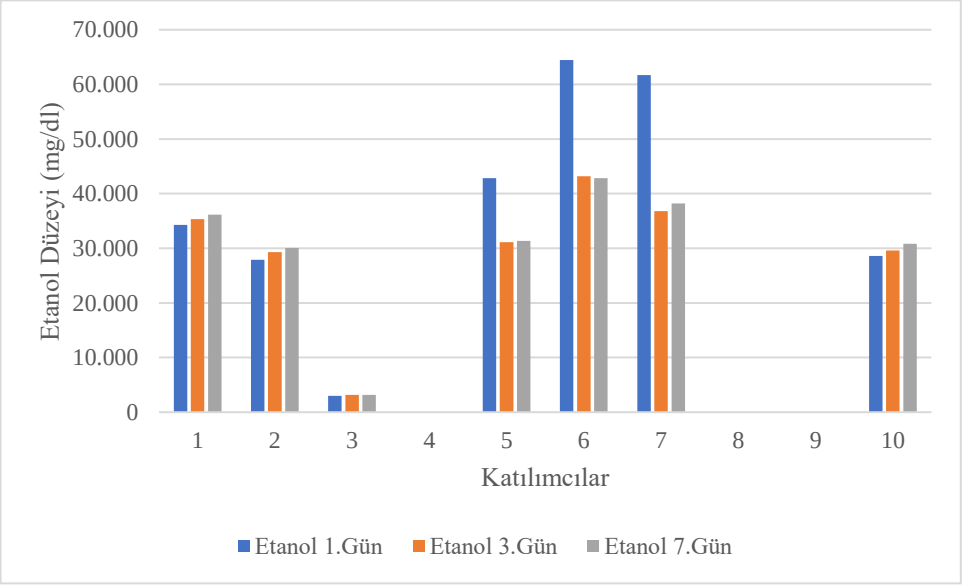
3.1. Etanol Analiz Sonuçları

Headspace gaz kromatografisi ile idrar örneklerinin etanol analizinde çift okuma yapılmış olup analiz sonuçları aritmetik ortalama şeklinde Çizelge 3.4'te verilmiştir; 4, 8 ve 9 numaralı katılımcıların idrar etanol sonuçlarının negatif olduğu tespit edilmiştir.

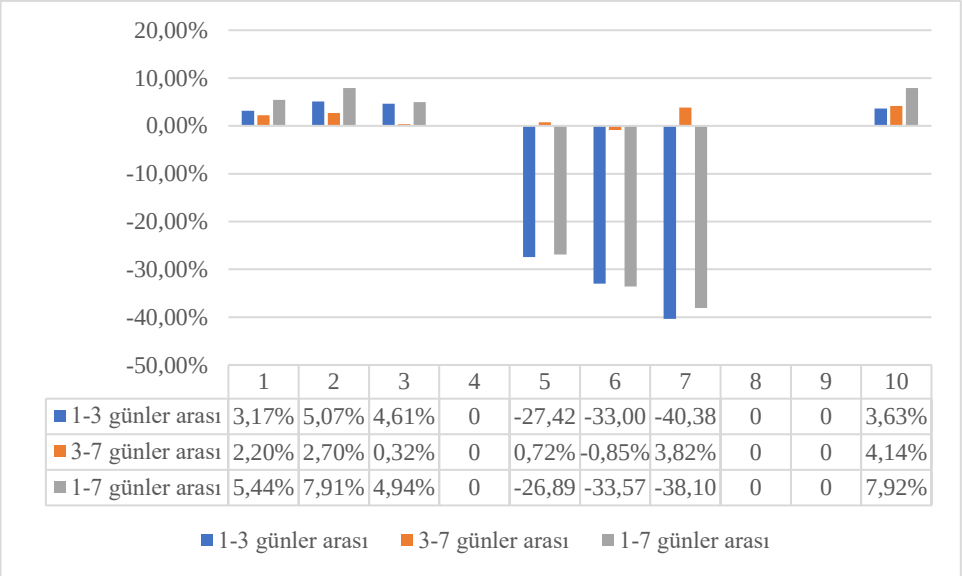
Çizelge 3.4. Etanol analiz sonuçları

	Etanol (mg/dl)		
Katılımcı	1.Gün	3.Gün	7.Gün
1	34.277	35.363	36.142
2	27.880	29.294	30.086
3	3.016	3.155	3.165
4	0	0	0
5	42.849	31.100	31.325
6	64.449	43.183	42.815
7	61.696	36.786	38.190
8	0	0	0
9	0	0	0
10	28.572	29.608	30.835

Etanol analizinin 3 farklı zamandaki sonuçlarına ilişkin grafik Şekil 3.1'de verilmiştir. Analiz günleri arasındaki yüzde değişim, ölçüm aralıklarına uygun şekilde; 1.gün-3.gün, 3.gün-7.gün ve 1.gün-7.gün olarak hesaplanmış ve yüzde değişim grafiği Şekil 3.2'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Etanol analiz grafiği

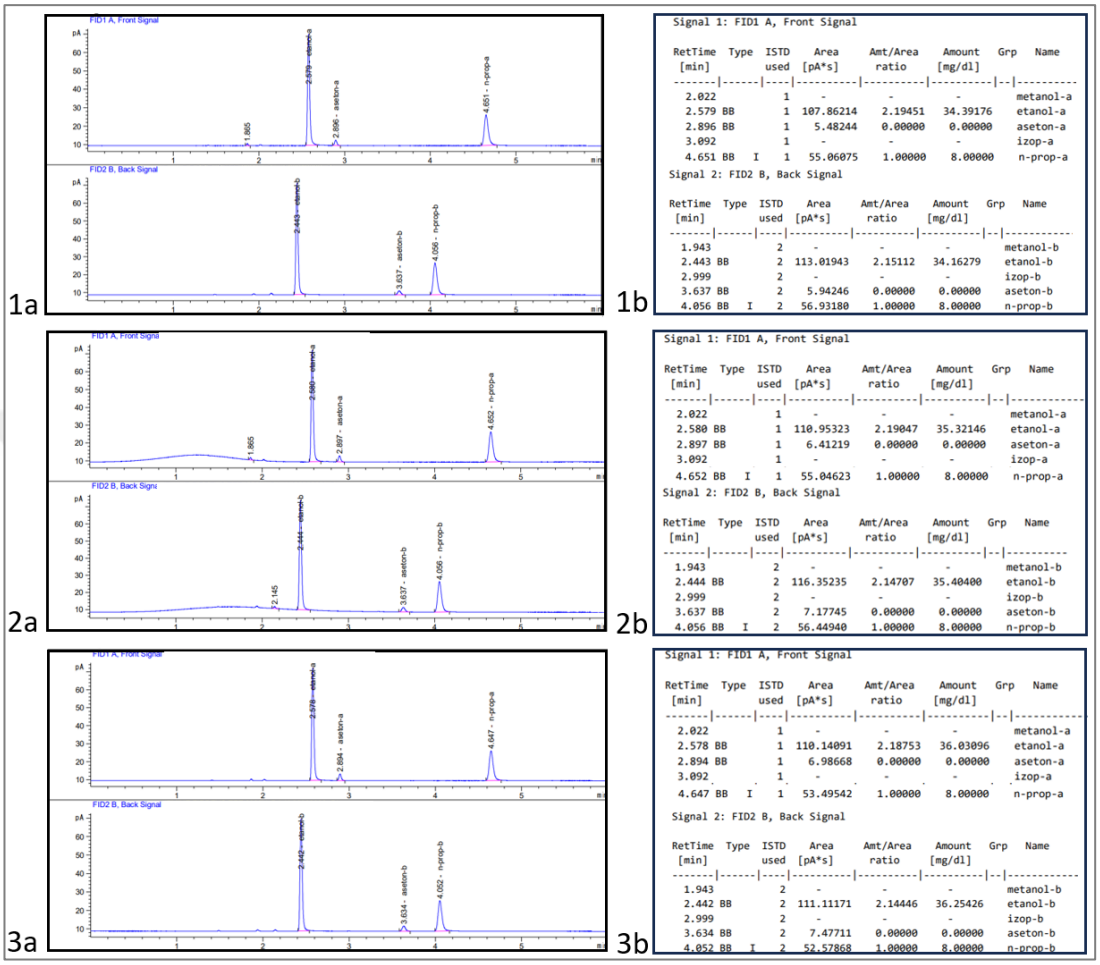


	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1-3 günler arası	3,17%	5,07%	4,61%	0	-27,42	-33,00	-40,38	0	0	3,63%
3-7 günler arası	2,20%	2,70%	0,32%	0	0,72%	-0,85%	3,82%	0	0	4,14%
1-7 günler arası	5,44%	7,91%	4,94%	0	-26,89	-33,57	-38,10	0	0	7,92%

Şekil 3.2. Etanol % değişim grafiği

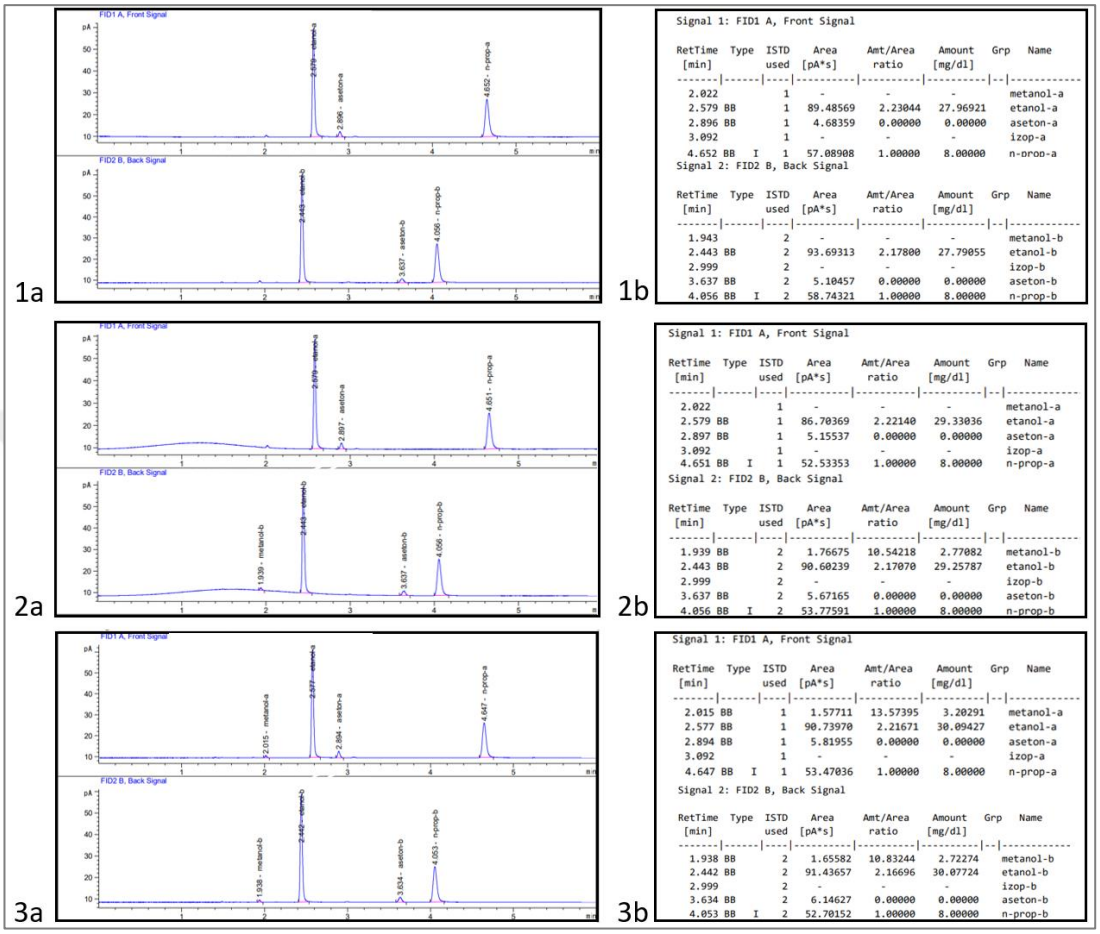
Etanol analizinin 3 zaman dilimindeki sonuçlarında parametrik olmayan Related-Samples Friedman's Two-Way Analysis of Variance by Ranks testine göre anlamlı bir fark tespit edilmedi (p=0,368). Bununla birlikte, ölçüm yapılan zaman dilimleri 2'li olarak parametrik olmayan Wilcoxon Signed Ranks testi ile analiz edildi ve elde edilen sonuçlar 2'li analizlerde de istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını gösterdi; etanol 1.gün-etanol 3.gün (p=0,499), etanol 1.gün-etanol 7.gün (p=0,499) ve etanol 3.gün- etanol 7.gün (p=0,063).

Katılımcı 1'e ait 1., 3. ve 7. gün etanol analizi ile elde edilen kromatogramlar ve sonuçlar Şekil 3.3'te verilmiştir.



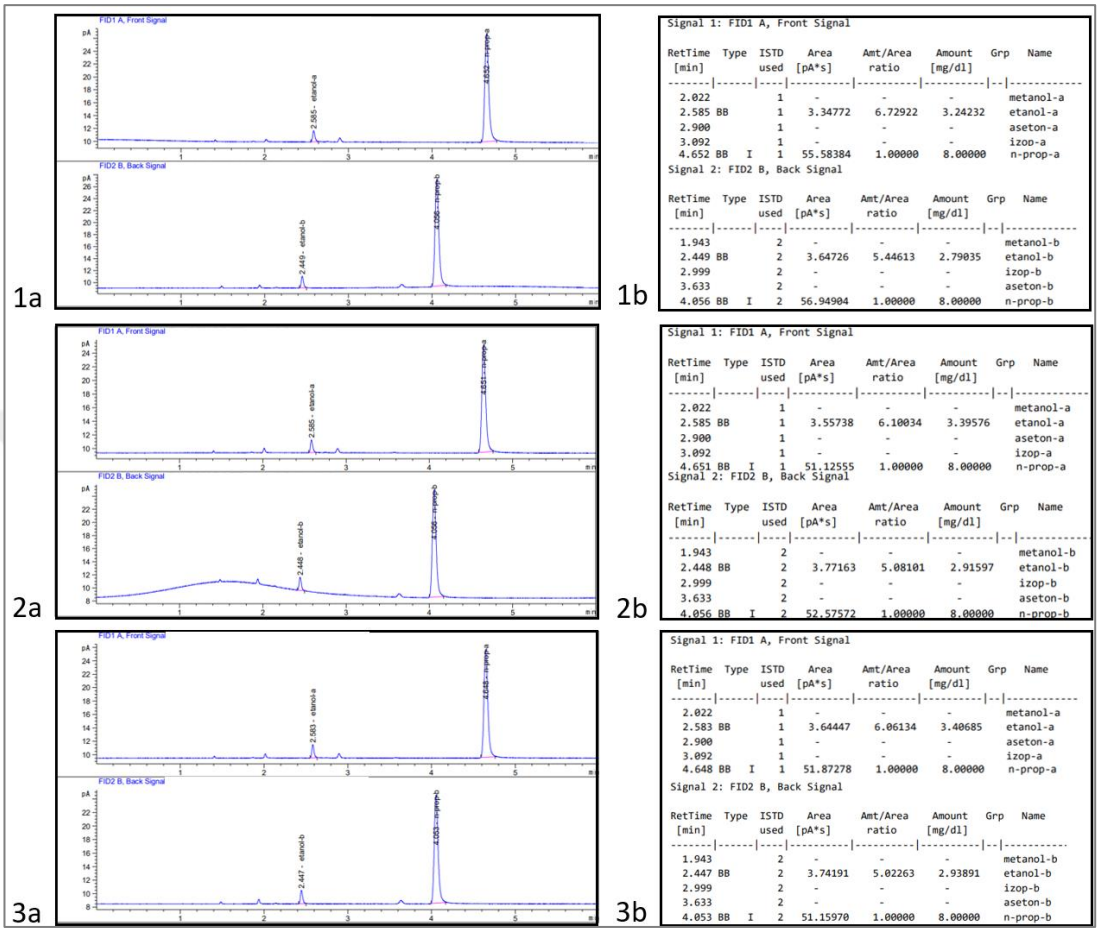
Şekil 3.3. Katılımcı 1 etanol sonuçları. 1a ve 1b: 1.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 2a ve 2b: 3.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 3a ve 3b: 7.Gün kromatogramı ve analiz sonucu

Katılımcı 2'nin 1., 3. ve 7. gün etanol analizi ile elde edilen kromatogramlar ve sonuçlar Şekil 3.4'te verilmiştir.



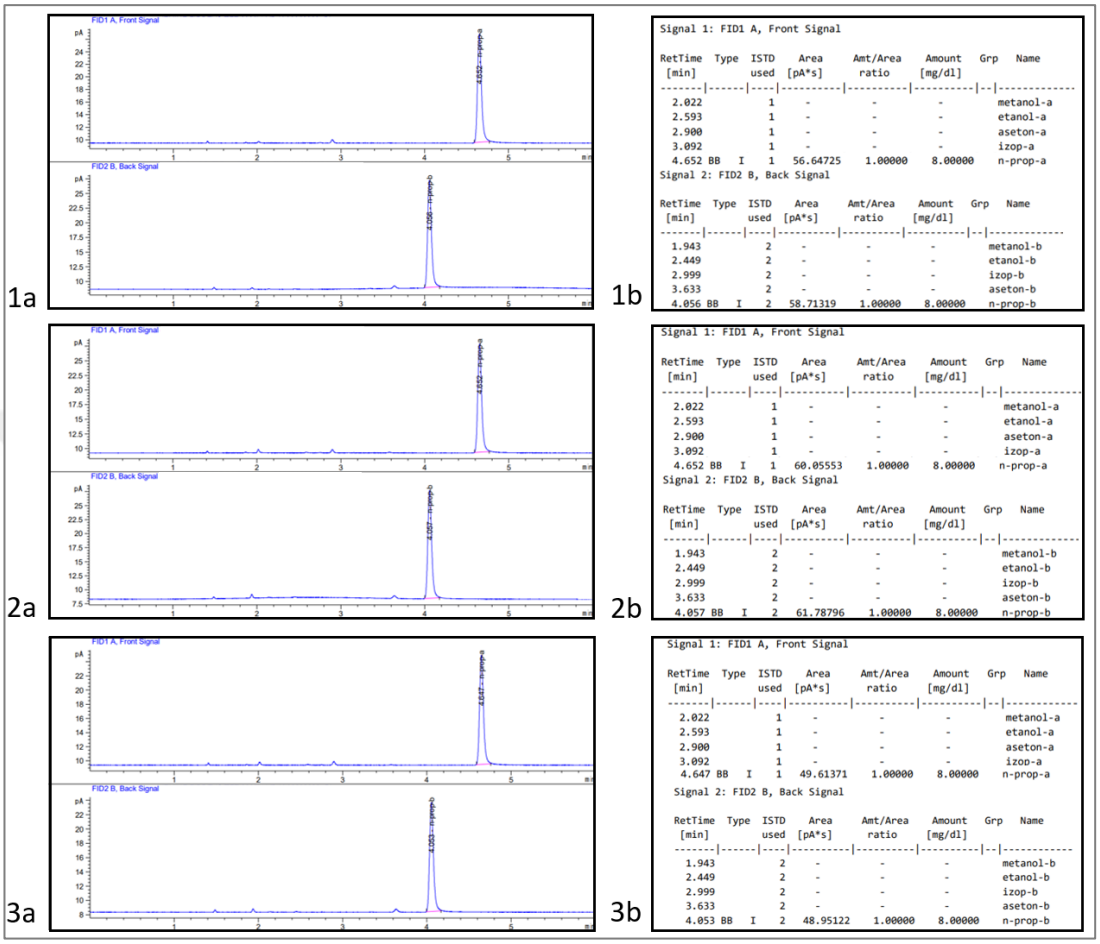
Şekil 3.4. Katılımcı 2 etanol sonuçları. 1a ve 1b: 1.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 2a ve 2b: 3.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 3a ve 3b: 7.Gün kromatogramı ve analiz sonucu

Katılımcı 3'e ait 1., 3. ve 7. gün etanol analizi ile elde edilen kromatogramlar ve sonuçlar Şekil 3.5'te verilmiştir.



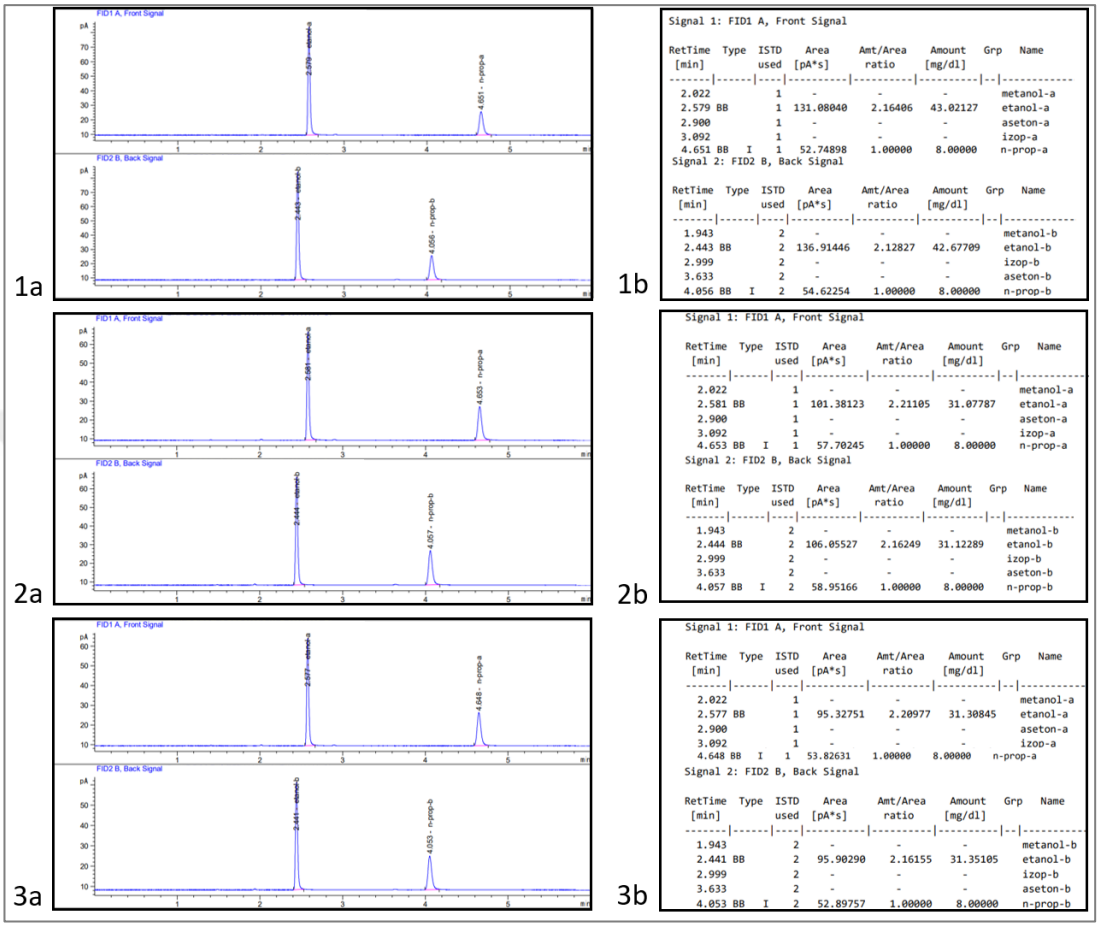
Şekil 3.5. Katılımcı 3 etanol sonuçları. 1a ve 1b: 1.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 2a ve 2b: 3.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 3 ve 3b: 7. Gün kromatogramı ve analiz sonucu

Katılımcı 4'e ait 1., 3. ve 7. gün etanol analizi ile elde edilen kromatogramlar ve sonuçlar Şekil 3.6'da verilmiştir.



Şekil 3.6. Katılımcı 4 etanol sonuçları. 1a ve 1b: 1.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 2a ve 2b: 3.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 3a ve 3b: 7.Gün kromatogramı ve analiz sonucu

Katılımcı 5'e ait 1., 3. ve 7. gün etanol analizi ile elde edilen kromatogramlar ve sonuçlar Şekil 3.7'de verilmiştir.



1b

Signal 1: FID1 A, Front Signal

RetTime [min]	Type	ISTD used	Area [pA*s]	Amt/Area ratio	Amount [mg/dl]	Grp	Name
2.022		1	-	-	-		metanol-a
2.579	BB	1	131.08040	2.16406	43.02127		etanol-a
2.900		1	-	-	-		aseton-a
3.092		1	-	-	-		izop-a
4.651	BB I	1	52.74898	1.00000	8.00000		n-prop-a

Signal 2: FID2 B, Back Signal

RetTime [min]	Type	ISTD used	Area [pA*s]	Amt/Area ratio	Amount [mg/dl]	Grp	Name
1.943		2	-	-	-		metanol-b
2.443	BB	2	136.91446	2.12827	42.67709		etanol-b
2.999		2	-	-	-		izop-b
3.633		2	-	-	-		aseton-b
4.056	BB I	2	54.62254	1.00000	8.00000		n-prop-b

2b

Signal 1: FID1 A, Front Signal

RetTime [min]	Type	ISTD used	Area [pA*s]	Amt/Area ratio	Amount [mg/dl]	Grp	Name
2.022		1	-	-	-		metanol-a
2.581	BB	1	101.38123	2.21105	31.07787		etanol-a
2.900		1	-	-	-		aseton-a
3.092		1	-	-	-		izop-a
4.653	BB I	1	57.70245	1.00000	8.00000		n-prop-a

Signal 2: FID2 B, Back Signal

RetTime [min]	Type	ISTD used	Area [pA*s]	Amt/Area ratio	Amount [mg/dl]	Grp	Name
1.943		2	-	-	-		metanol-b
2.444	BB	2	106.05527	2.16249	31.12289		etanol-b
2.999		2	-	-	-		izop-b
3.633		2	-	-	-		aseton-b
4.057	BB I	2	58.95166	1.00000	8.00000		n-prop-b

3b

Signal 1: FID1 A, Front Signal

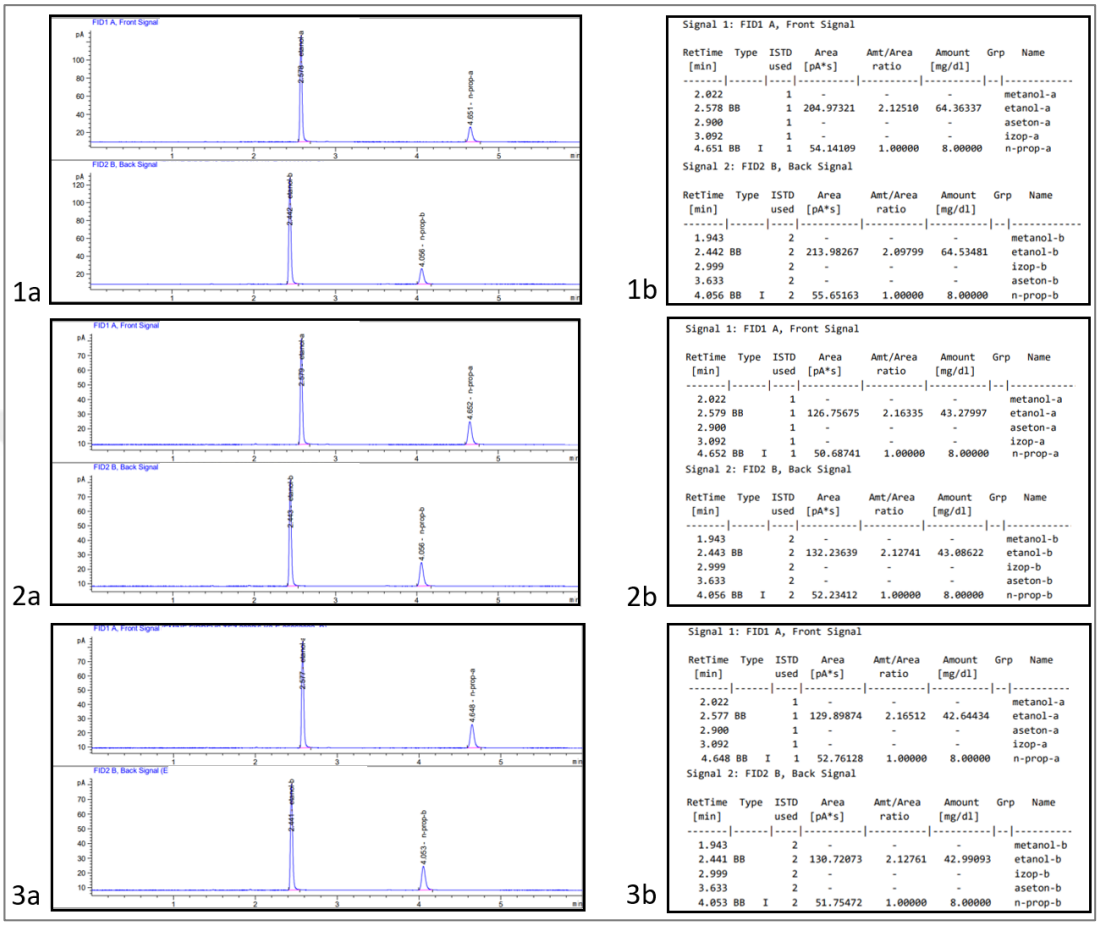
RetTime [min]	Type	ISTD used	Area [pA*s]	Amt/Area ratio	Amount [mg/dl]	Grp	Name
2.022		1	-	-	-		metanol-a
2.577	BB	1	95.32751	2.20977	31.30845		etanol-a
2.900		1	-	-	-		aseton-a
3.092		1	-	-	-		izop-a
4.648	BB I	1	53.82631	1.00000	8.00000		n-prop-a

Signal 2: FID2 B, Back Signal

RetTime [min]	Type	ISTD used	Area [pA*s]	Amt/Area ratio	Amount [mg/dl]	Grp	Name
1.943		2	-	-	-		metanol-b
2.441	BB	2	95.90290	2.16155	31.35105		etanol-b
2.999		2	-	-	-		izop-b
3.633		2	-	-	-		aseton-b
4.053	BB I	2	52.89757	1.00000	8.00000		n-prop-b

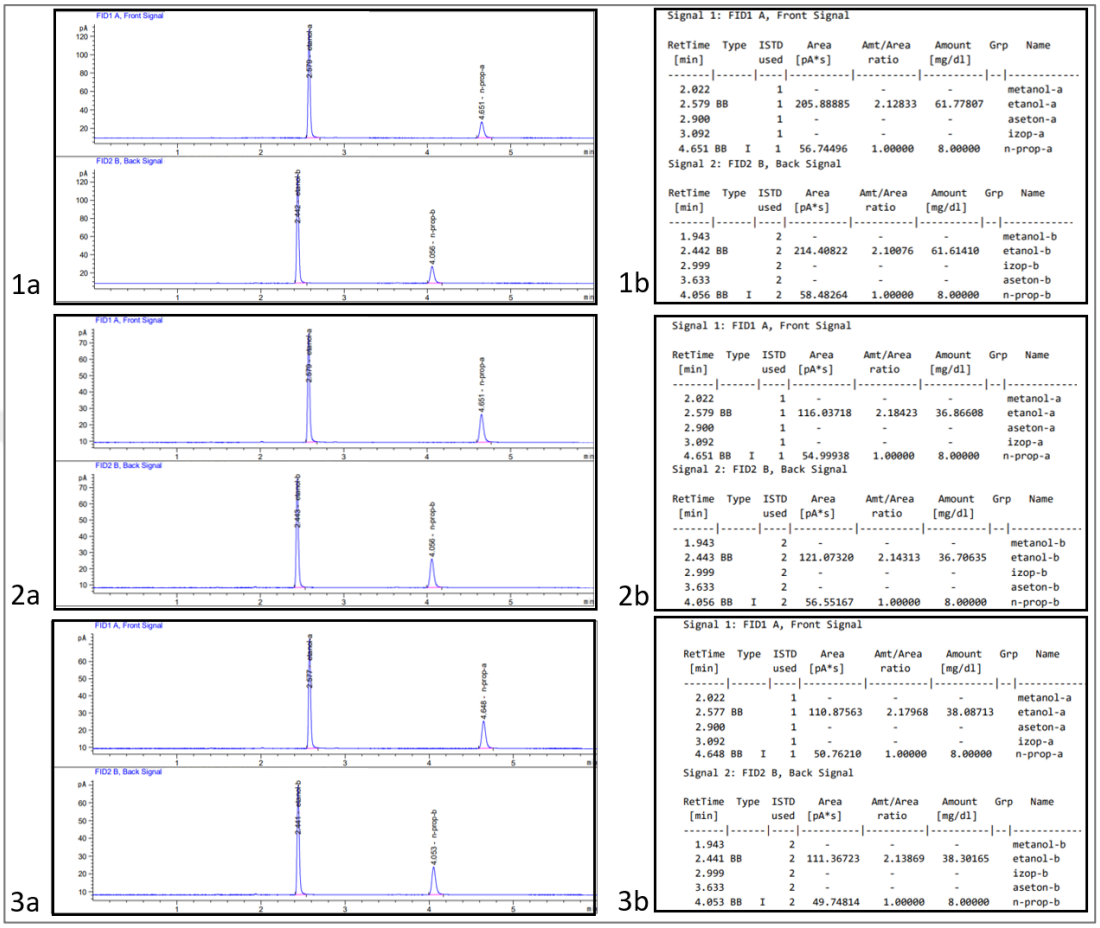
Şekil 3.7. Katılımcı 5 etanol sonuçları. 1a ve 1b: 1.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 2a ve 2b: 3.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 3a ve 3b: 7.Gün kromatogramı ve analiz sonucu

Katılımcı 6'nın 1., 3. ve 7. gün etanol analizi ile elde edilen kromatogramlar ve sonuçlar Şekil 3.8'de verilmiştir.



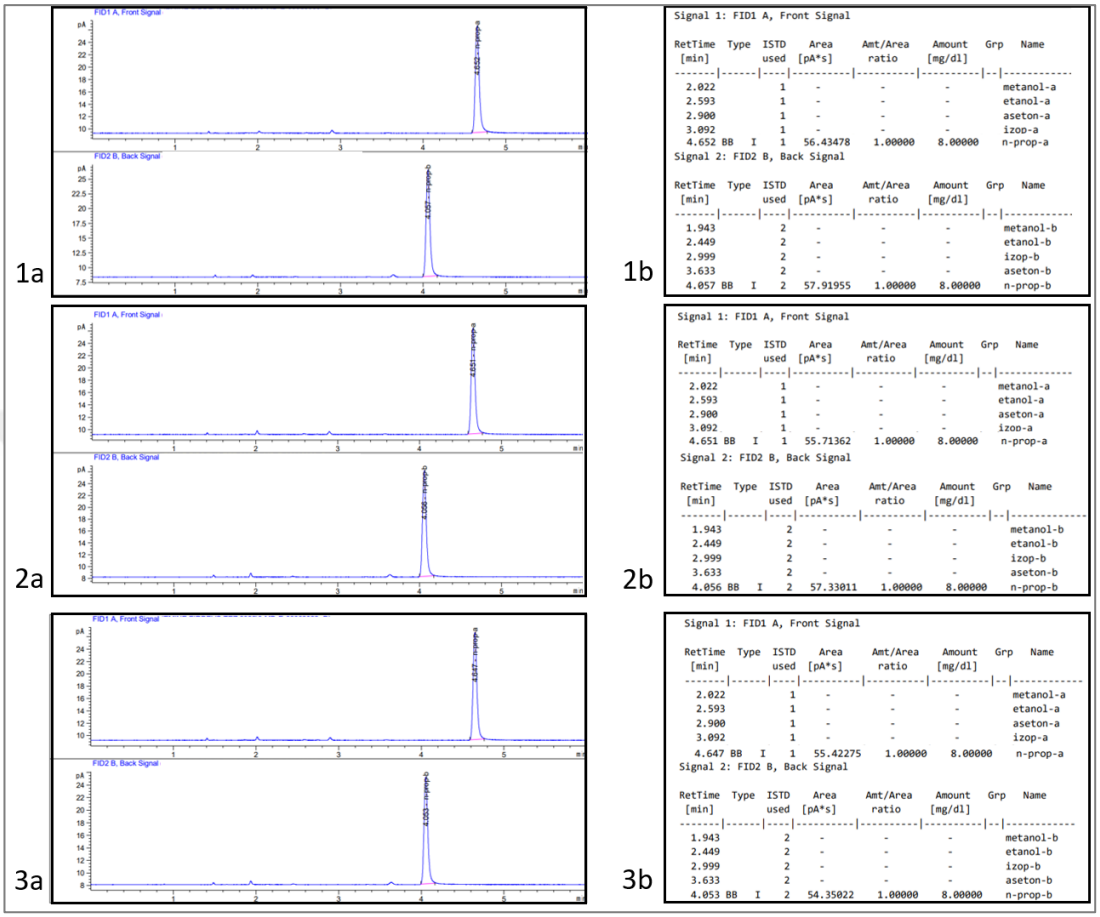
Şekil 3.8. Katılımcı 6 etanol sonuçları. 1a ve 1b: 1.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 2a ve 2b: 3.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 3a ve 3b: 7.Gün kromatogramı ve analiz sonucu

Katılımcı 7'nin 1., 3. ve 7. gün etanol analizi ile elde edilen kromatogramlar ve sonuçlar Şekil 3.9'da verilmiştir.



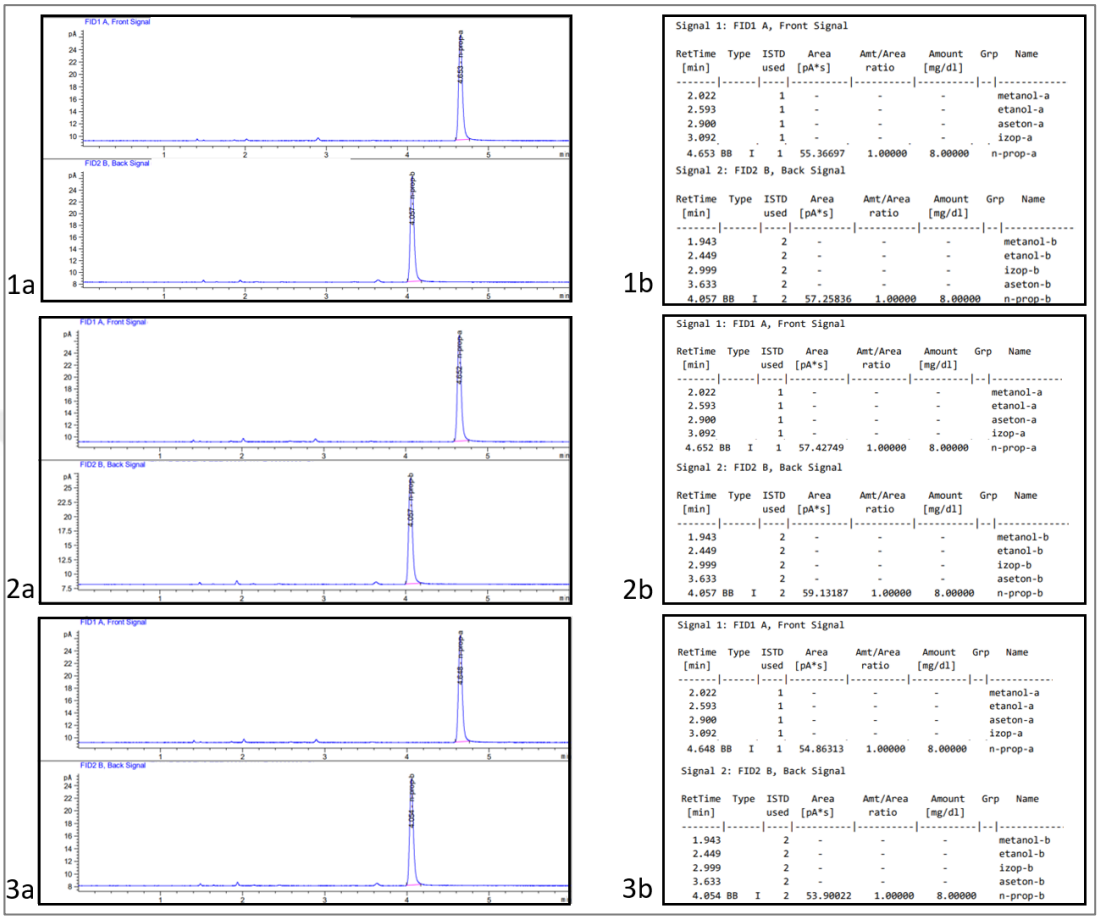
Şekil 3.9. Katılımcı 7 etanol sonuçları. 1a ve 1b: 1.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 2a ve 2b: 3.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 3a ve 3b: 7.Gün kromatogramı ve analiz sonucu

Katılımcı 8'e ait 1., 3. ve 7. gün etanol analizi ile elde edilen kromatogramlar ve sonuçlar Şekil 3.10'da verilmiştir.



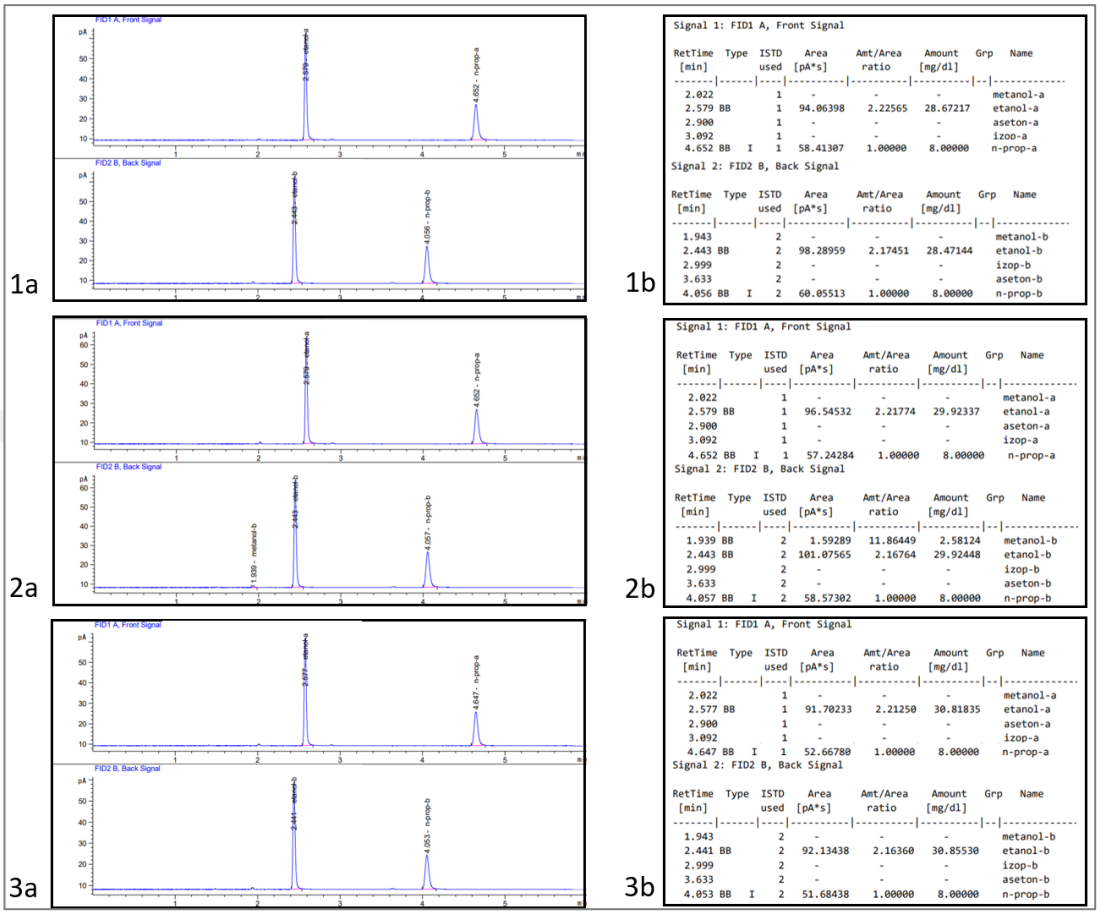
Şekil 3.10. Katılımcı 8 etanol sonuçları. 1a ve 1b: 1.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 2a ve 2b: 3.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 3a ve 3b: 7.Gün kromatogramı ve analiz sonucu

Katılımcı 9'a ait 1., 3. ve 7. gün etanol analizi ile elde edilen kromatogramlar ve sonuçlar Şekil 3.11'de verilmiştir.



Şekil 3.11. Katılımcı 9 etanol sonuçları. 1a ve 1b: 1.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 2a ve 2b: 3.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 3a ve 3b: 7.Gün kromatogramı ve analiz sonucu

Katılımcı 10'a ait 1., 3. ve 7. gün etanol analizi ile elde edilen kromatogramlar ve sonuçlar Şekil 3.12'de verilmiştir.



Şekil 3.12. Katılımcı 10 etanol sonuçları. 1a ve 1b: 1.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 2a ve 2b: 3.Gün kromatogramı ve analiz sonucu 3a ve 3b: 7.Gün kromatogramı ve analiz sonucu

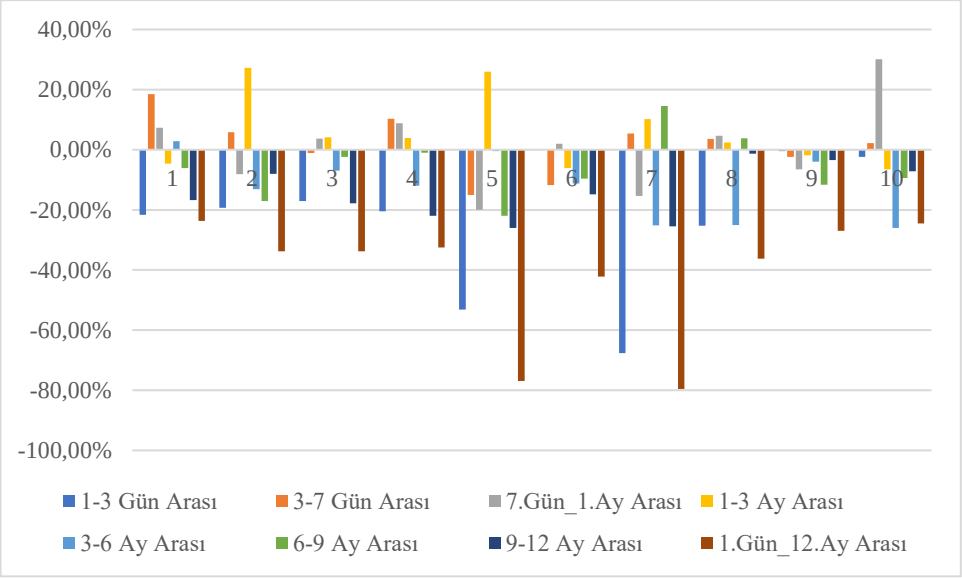
3.2. Etil Glukuronid Analiz Sonuçları

İdrar örneklerinin etil glukuronid analizinde çift okuma yapılmış olup analiz sonuçlarının aritmetik ortalaması dikkate alınmış ve Çizelge 3.5'te verilmiştir. Altı numaralı katılımcının 1.gün analizinde yaşanan sehven hata sonucu katılımcının idrar EtG sonucu negatiftir.

Çizelge 3.5. EtG analiz sonuçları

	ETG (ng/ml)							
Katılımcı	**1.Gün**	**3.Gün**	**7.Gün**	**1.Ay**	**3.Ay**	**6.Ay**	**9.Ay**	**12.Ay**
1	7861,5	6156,5	7297	7828,5	7471,5	7681	7214	6002,5
2	8379	6764,5	7157,5	6573,5	8365	7269	6031	5546,5
3	928	770	761,5	790	822,5	765,5	747,5	614,5
4	901	717	791	861	895	788	780	608,5
5	290,5	136	115,5	92,5	116,5	116	90,5	67
6	-	174	153,5	156,5	147	130,5	118	100,5
7	287	93	98	83	91,5	68,5	78,5	58,5
8	1340	1001	1037	1085,5	1111,5	833,5	865,5	854,5
9	918	913,5	891,5	833	818	786	694,5	670,5
10	8895	8683	8872	11542,5	10791,5	7985	7233	6718

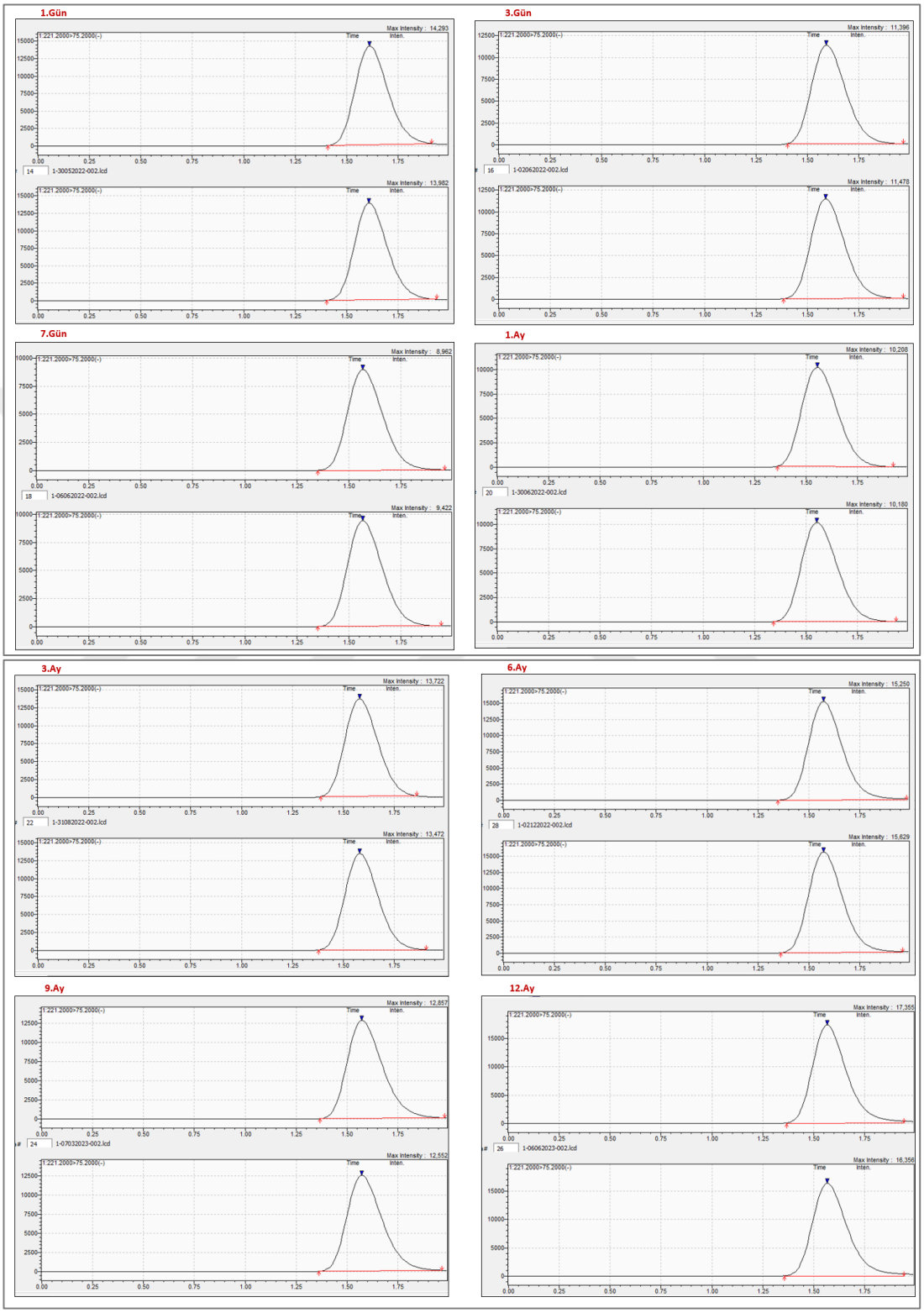
Analiz zamanları arasındaki EtG yüzde değişimleri, ölçüm aralıklarına uygun şekilde hesaplanmış ve yüzde değişim grafiği Şekil 3.13'te verilmiştir.



Şekil 3.13. EtG % değişim grafiği

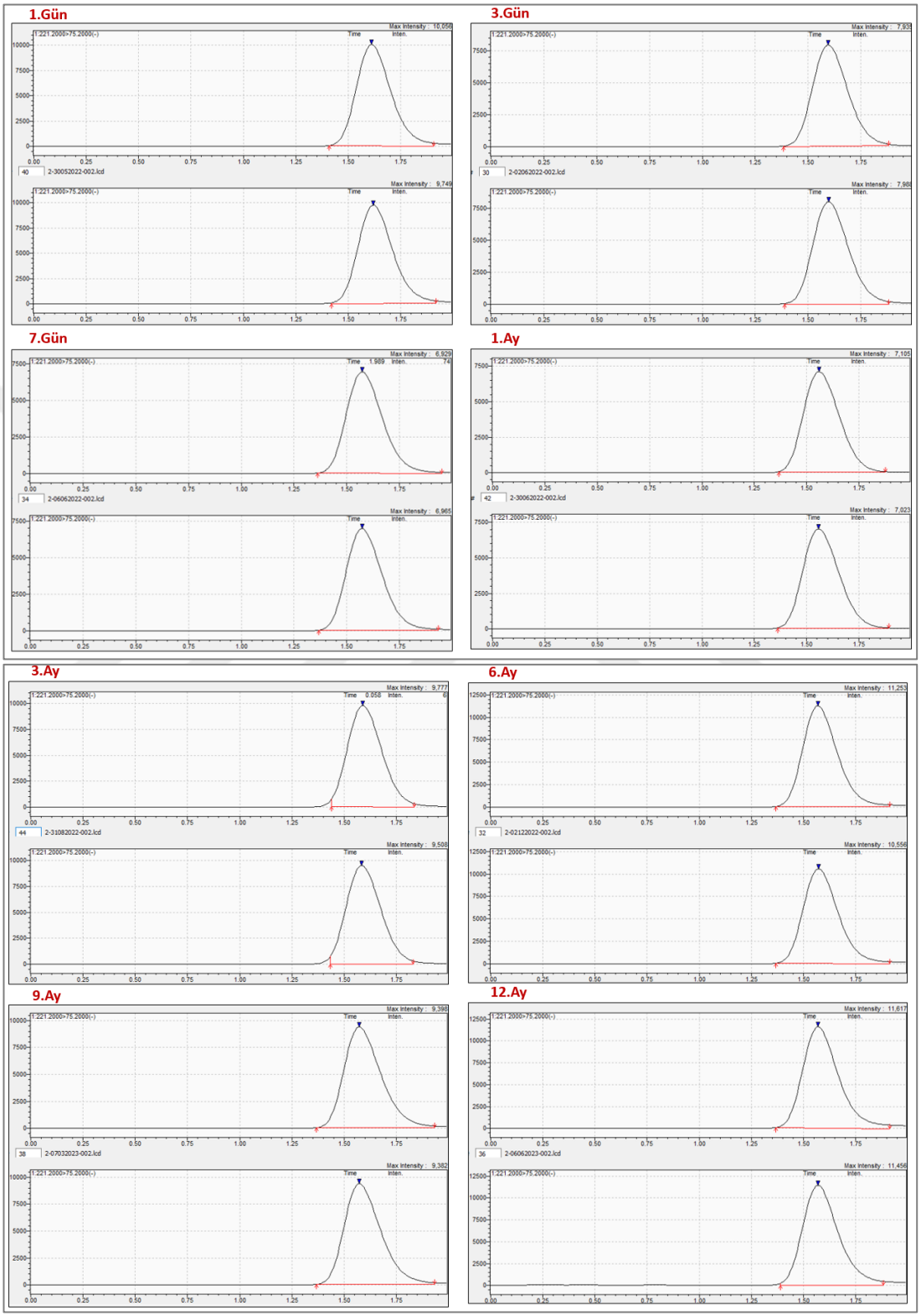
Etil glukuronid analizinin 8 zaman dilimindeki sonuçları parametrik olmayan Related-Samples Friedman's Two-Way Analysis of Variance by Ranks testine göre anlamlı bulundu ($p<0,001$). Zaman dilimlerindeki ölçümler 2'li olarak incelendi; EtG 1.gün-EtG 6.ay ($p=0,015$), EtG 1.gün-EtG 9.ay ($p<0,001$), EtG 1.gün-EtG 12.ay ($p<0,001$), EtG 7.gün- EtG 12.ay ($p=0,030$), EtG 1.ay-EtG 12.ay ($p=0.007$), EtG 3.ay-EtG 9.ay ($p=0,042$), EtG 3.ay-EtG 12.ay ($p<0,001$) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi.

Katılımcı 1’in etil glukuronid analizine ait kromatogramlar Şekil 3.14’te verilmiştir.



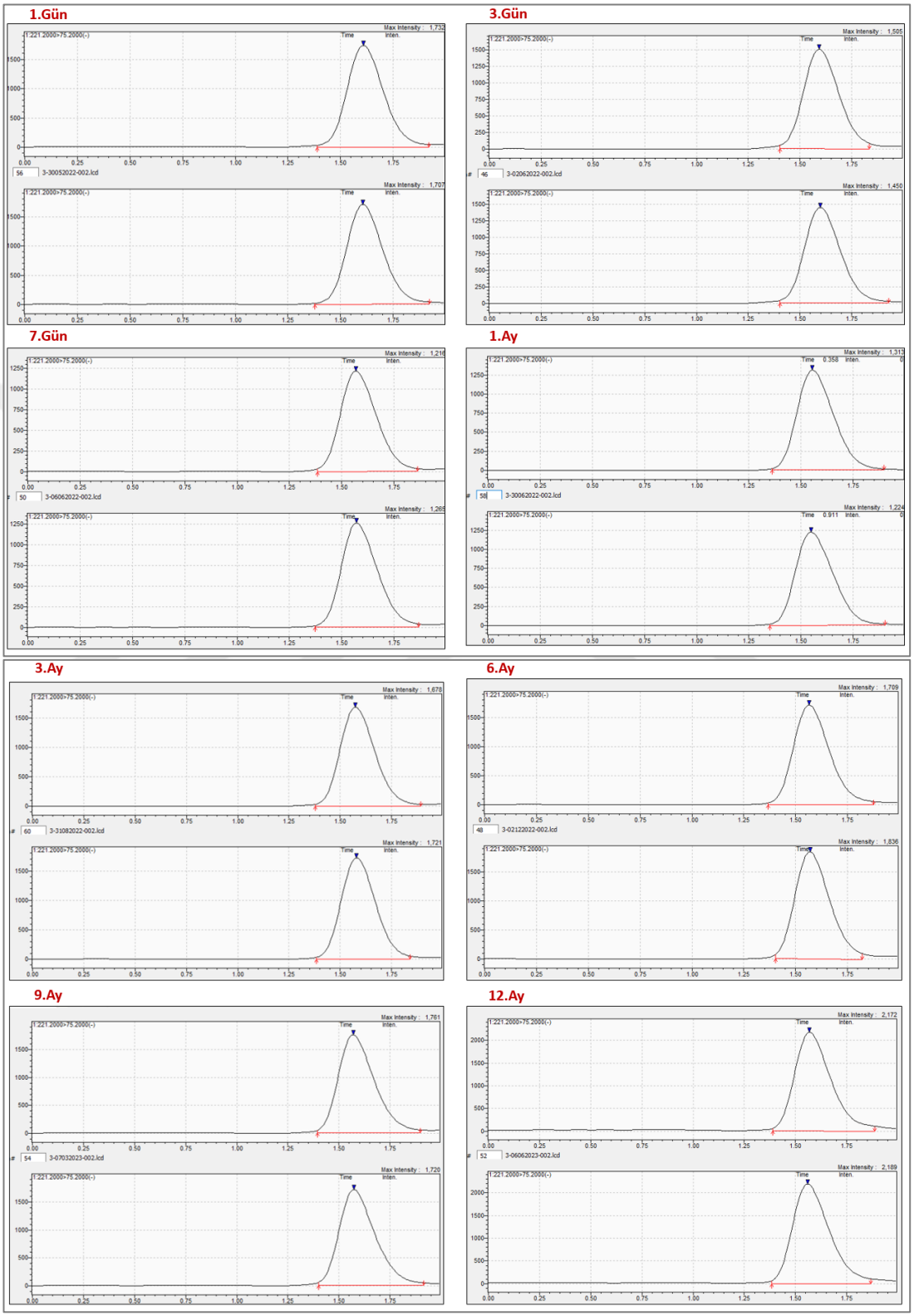
Şekil 3.14. Katılımcı 1 EtG sonuçları

Katılımcı 2'nin etil glukuronid analizine ait kromatogramlar Şekil 3.15'te verilmiştir.



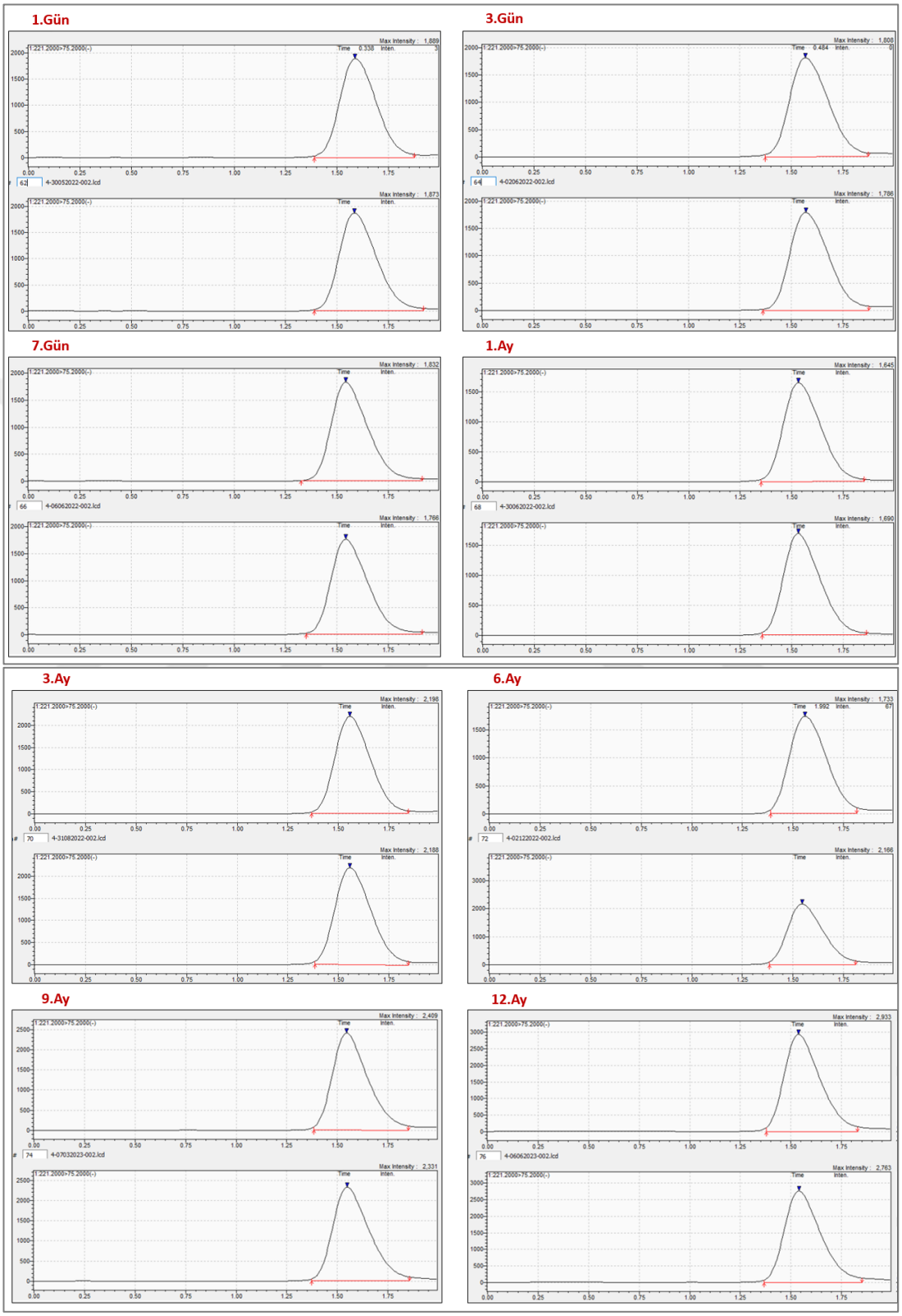
Şekil 3.15. Katılımcı 2 EtG **sonuçları**

Katılımcı 3'ün etil glukuronid analizine ait kromatogramlar Şekil 3.16'da verilmiştir.



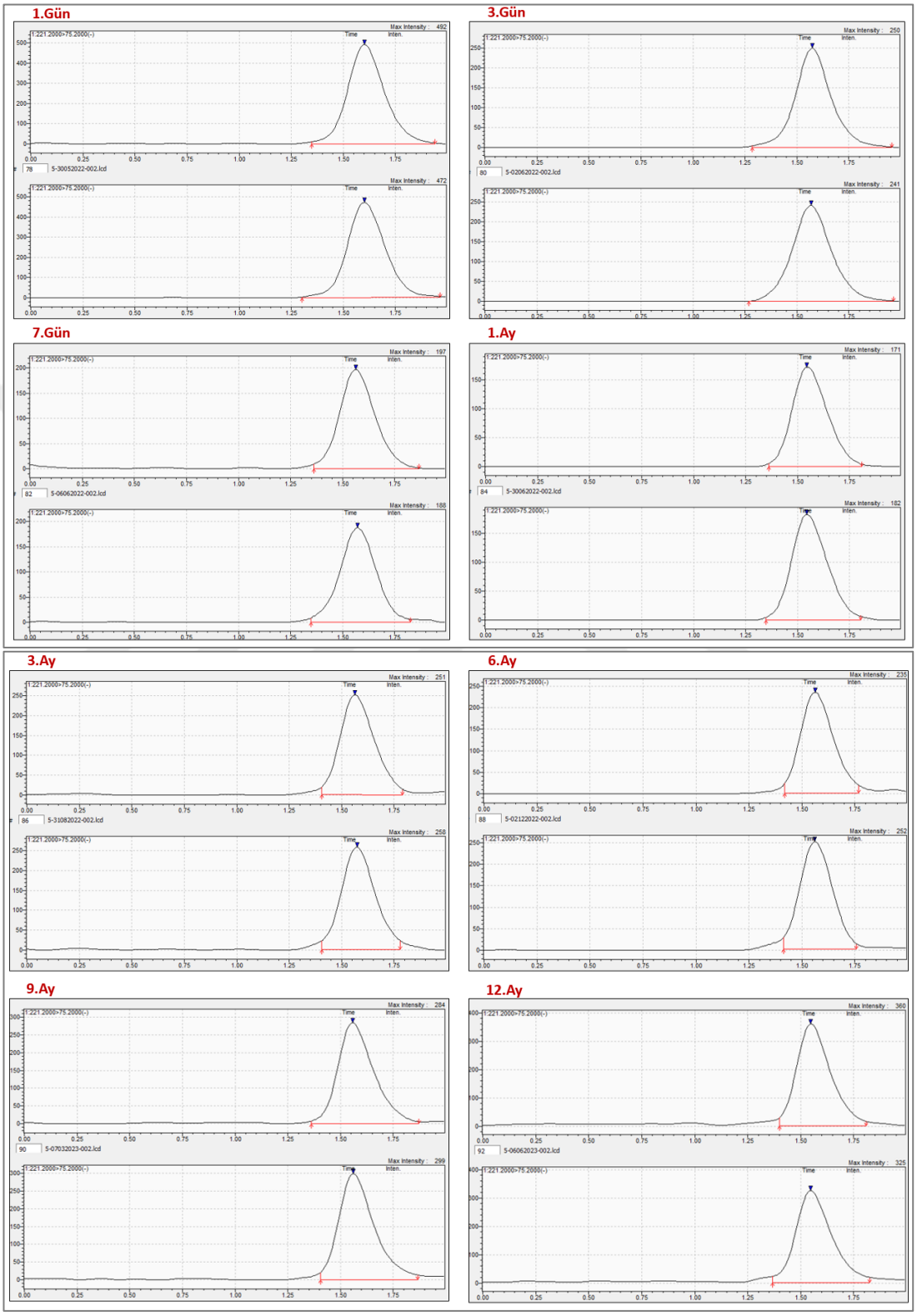
Şekil 3.16. Katılımcı 3 EtG sonuçları

Katılımcı 4'ün etil glukuronid analizine ait kromatogramlar Şekil 3.17'de verilmiştir.



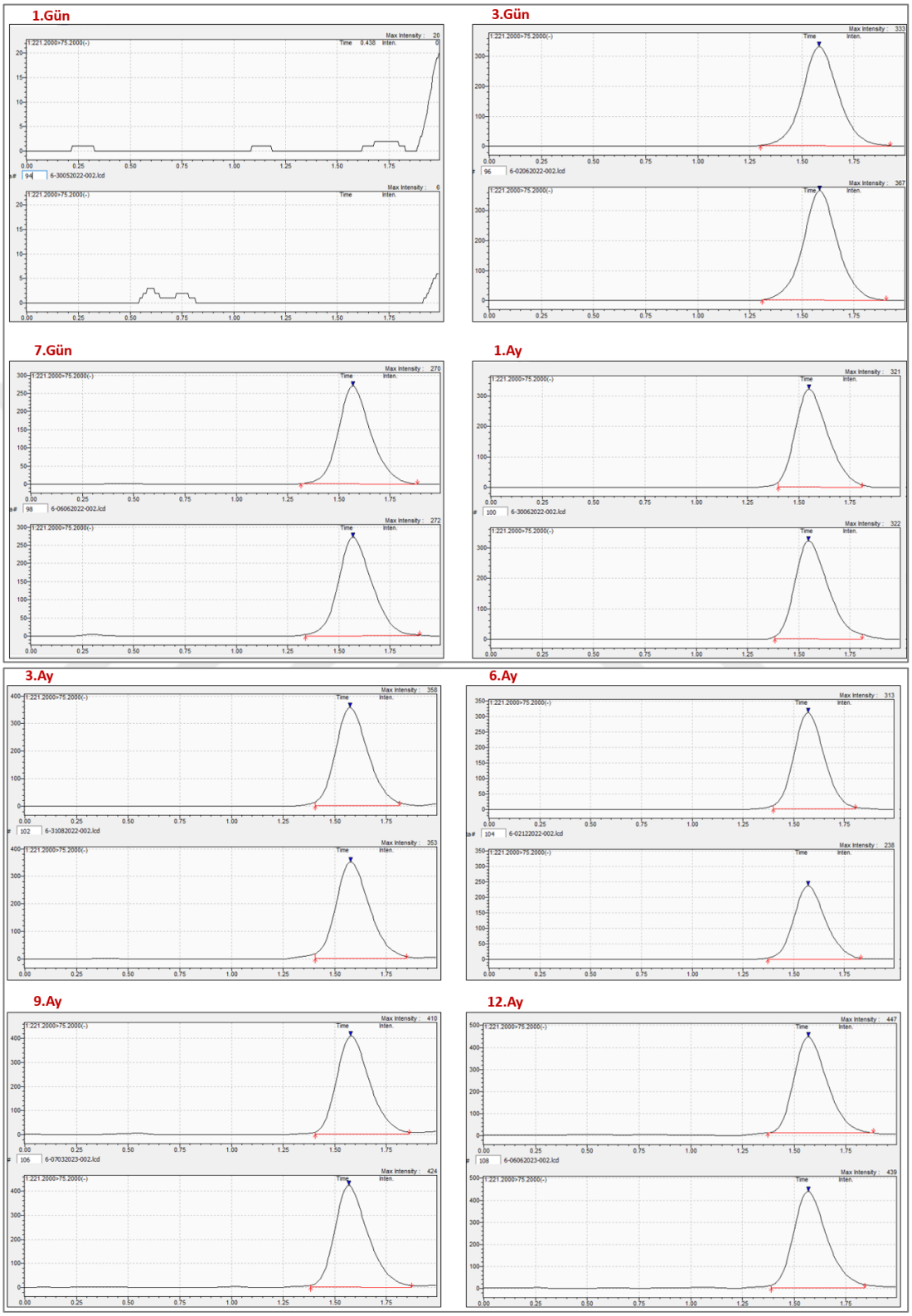
Şekil 3.17. Katılımcı 4 EtG sonuçları

Katılımcı 5'in etil glukuronid analizine ait kromatogramlar Şekil 3.18'de verilmiştir.



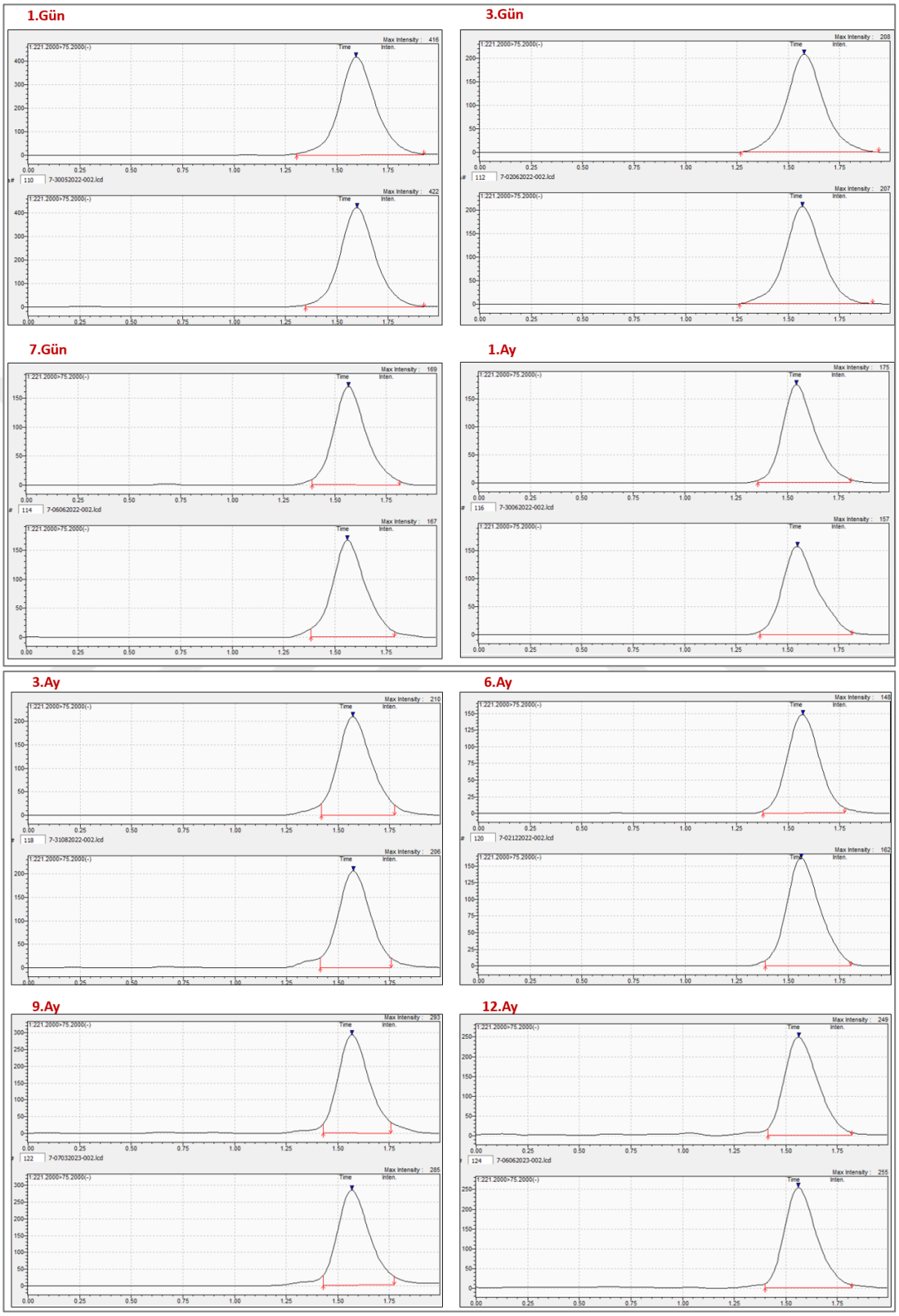
Şekil 3.18. Katılımcı 5 EtG sonuçları

Katılımcı 6'nın etil glukuronid analizine ait kromatogramlar Şekil 3.19'da verilmiştir.



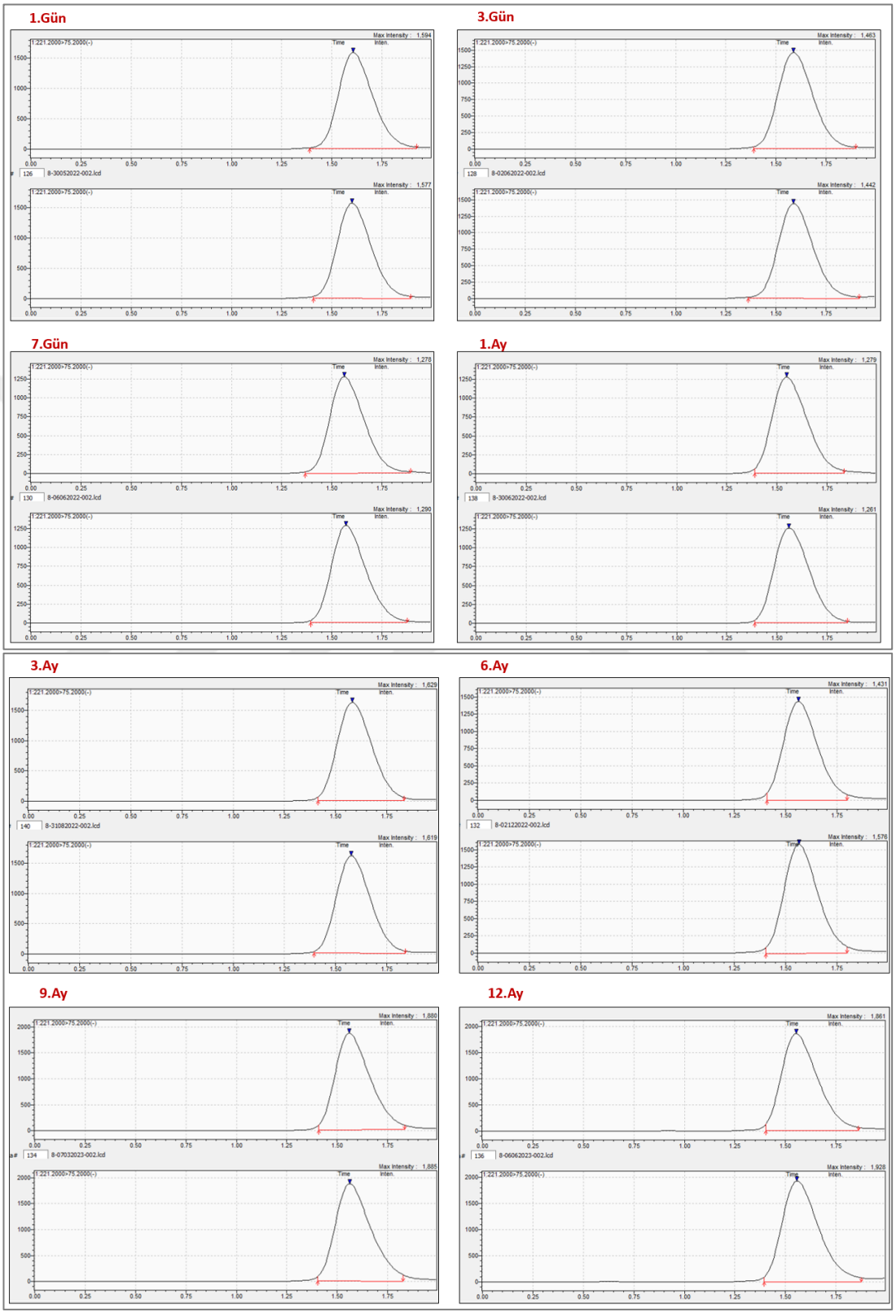
Şekil 3.19. Katılımcı 6 EtG sonuçları

Katılımcı 7'nin etil glukuronid analizine ait kromatogramlar Şekil 3.20'de verilmiştir.



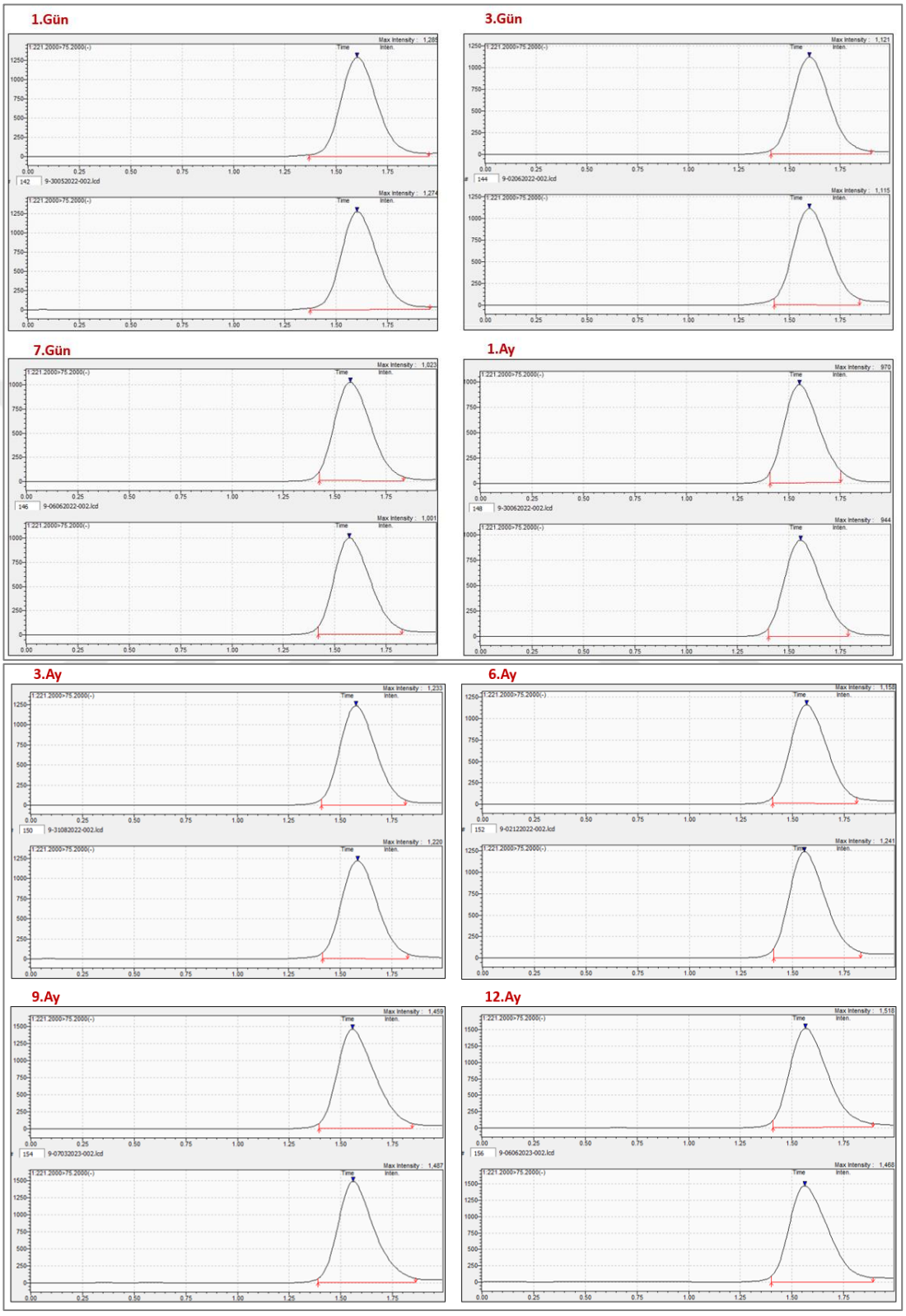
Şekil 3.20. Katılımcı 7 EtG sonuçları

Katılımcı 8’in etil glukuronid analizine ait kromatogramlar Şekil 3.21’de verilmiştir.



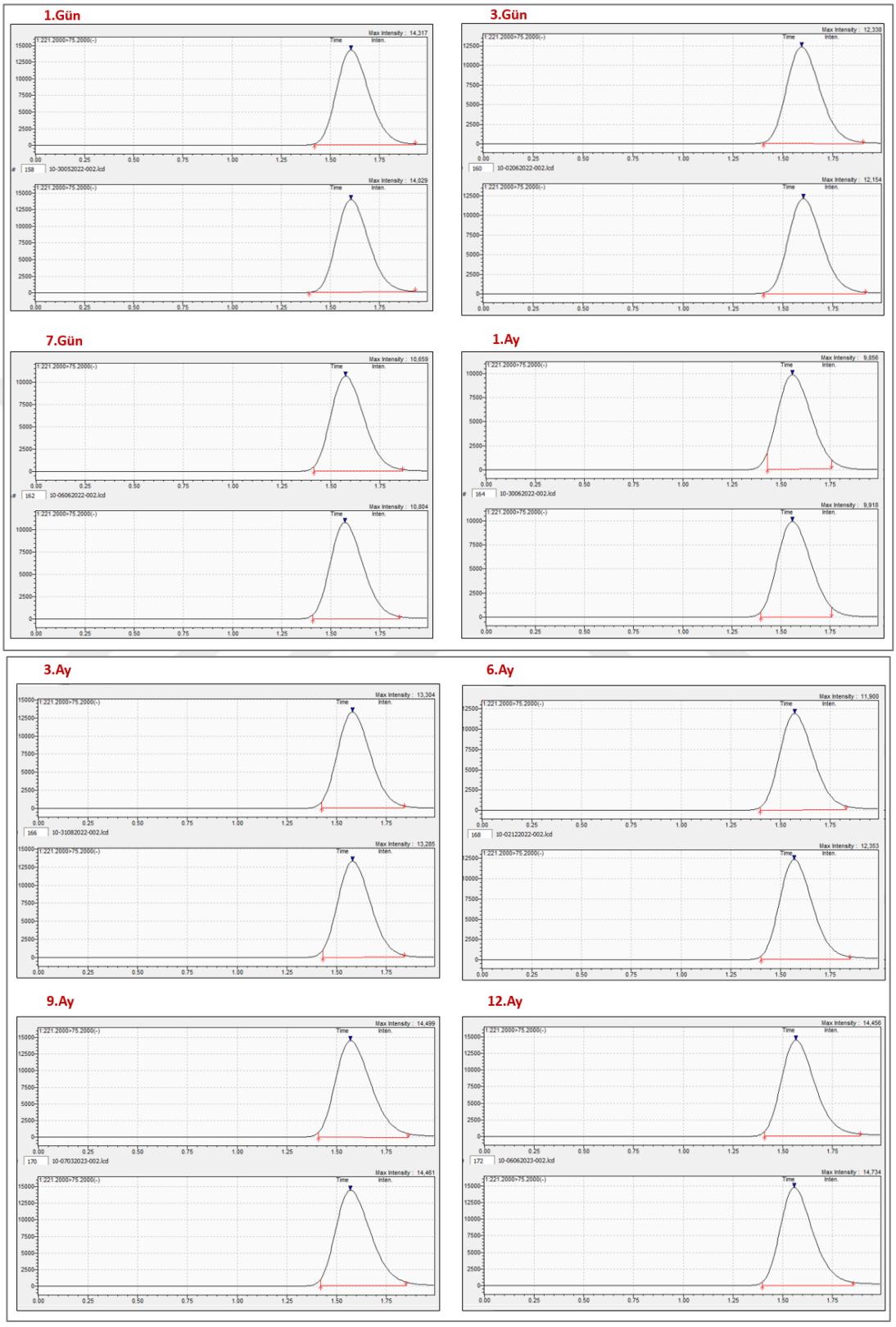
Şekil 3.21. Katılımcı 8 EtG sonuçları

Katılımcı 9'un etil glukuronid analizine ait kromatogramlar Şekil 3.22'de verilmiştir.



Şekil 3.22. Katılımcı 9 EtG sonuçları

Katılımcı 10'un etil glukuronid analizine ait kromatogramlar Şekil 3.23'te verilmiştir.



Şekil 3.23. Katılımcı 10 EtG sonuçları

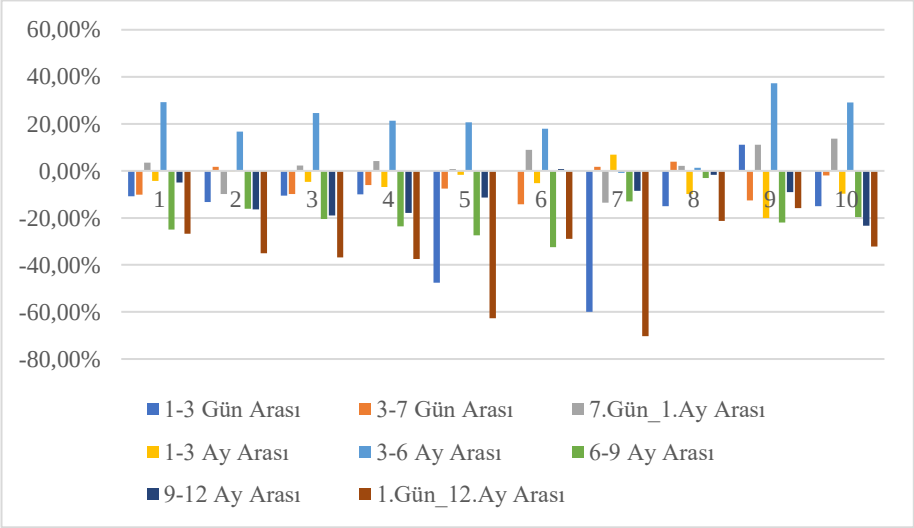
3.3. Etil Sülfat Analiz Sonuçları

İdrar örneklerinin etil sülfat analizinde çift okuma yapılmış olup analiz sonuçlarının aritmetik ortalaması dikkate alınmış ve Çizelge 3.6'te verilmiştir. Altı numaralı katılımcının 1.gün analizinde yaşanan sehven hata sonucu katılımcının idrar EtS sonucu negatiftir.

Çizelge 3.6. EtS analiz sonuçları

	ETS (ng/ml)							
Katılımcı	**1.Gün**	**3.Gün**	**7.Gün**	**1.Ay**	**3.Ay**	**6.Ay**	**9.Ay**	**12.Ay**
1	2956,5	2635,5	2368,5	2452,5	2347,5	3034,5	2278,5	2165
2	3388,5	2941,5	2992	2698	2692,5	3141	2633,5	2203,5
3	352	315	284	290,5	277	345	274,5	222,5
4	405,5	365	343	357,5	333	404	308,5	253,5
5	126	66	61	61,5	60,5	73	53	47
6	-	91,5	78,5	85,5	81	95,5	64,5	65
7	145	58	59	51	54,5	54	47	43
8	180,5	153,5	159,5	163	147	149	144,5	142
9	161,5	179,5	157	174,5	139,5	191,5	149,5	136
10	2558,5	2173	2129,5	2420,5	2185	2820,5	2265,5	1736,5

Analiz zamanları arasındaki EtS yüzde değişimleri, ölçüm aralıklarına uygun şekilde hesaplanmış ve yüzde değişim grafiği Şekil 3.24'te verilmiştir.

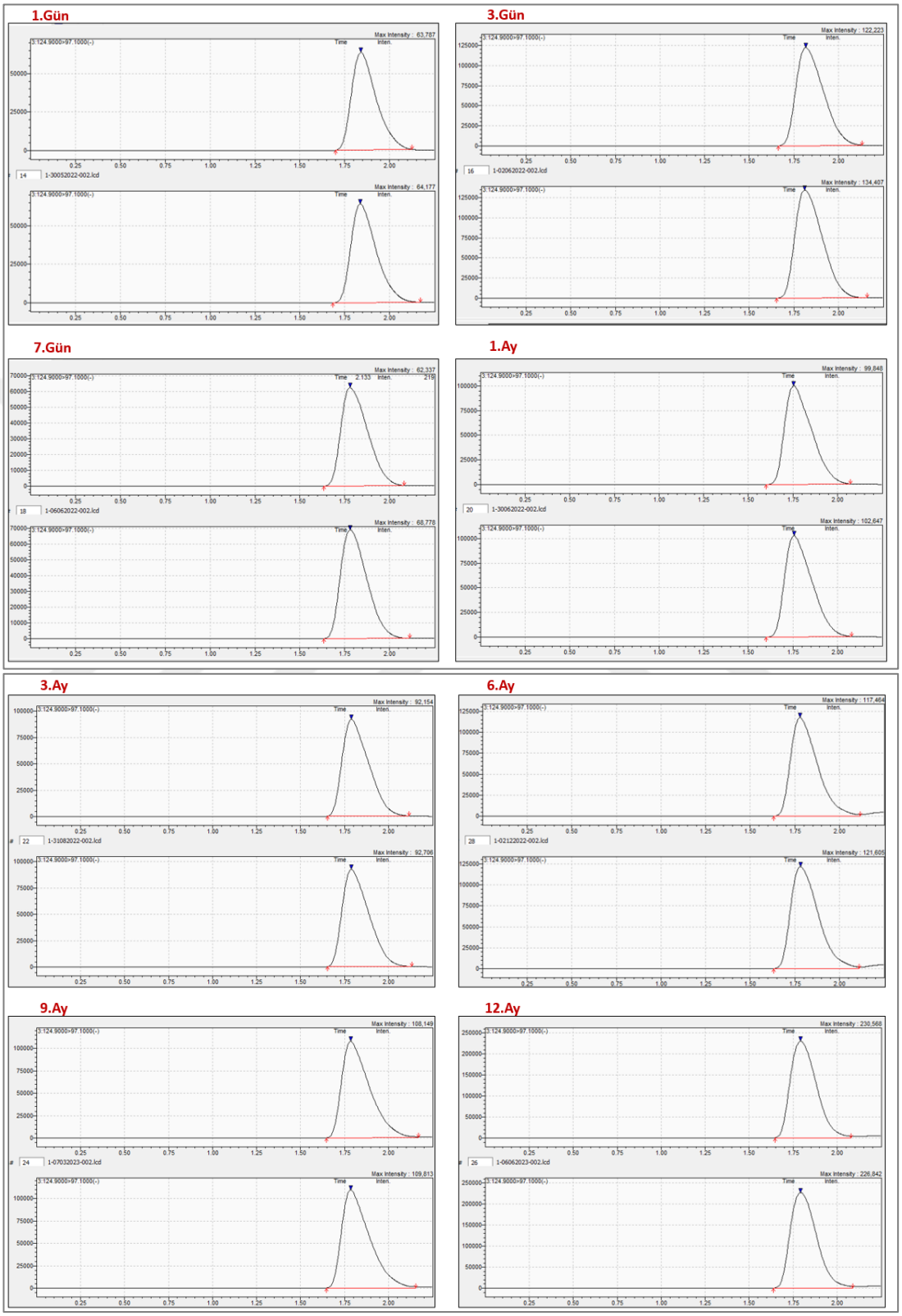


Şekil 3.24. EtS % değişim grafiği

Etil sülfat analizinin 8 zaman dilimindeki sonuçları parametrik olmayan Related-Samples Friedman's Two-Way Analysis of Variance by Ranks testine göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,001$). Zaman dilimlerindeki ölçümler 2'li olarak analiz edildiğinde EtS

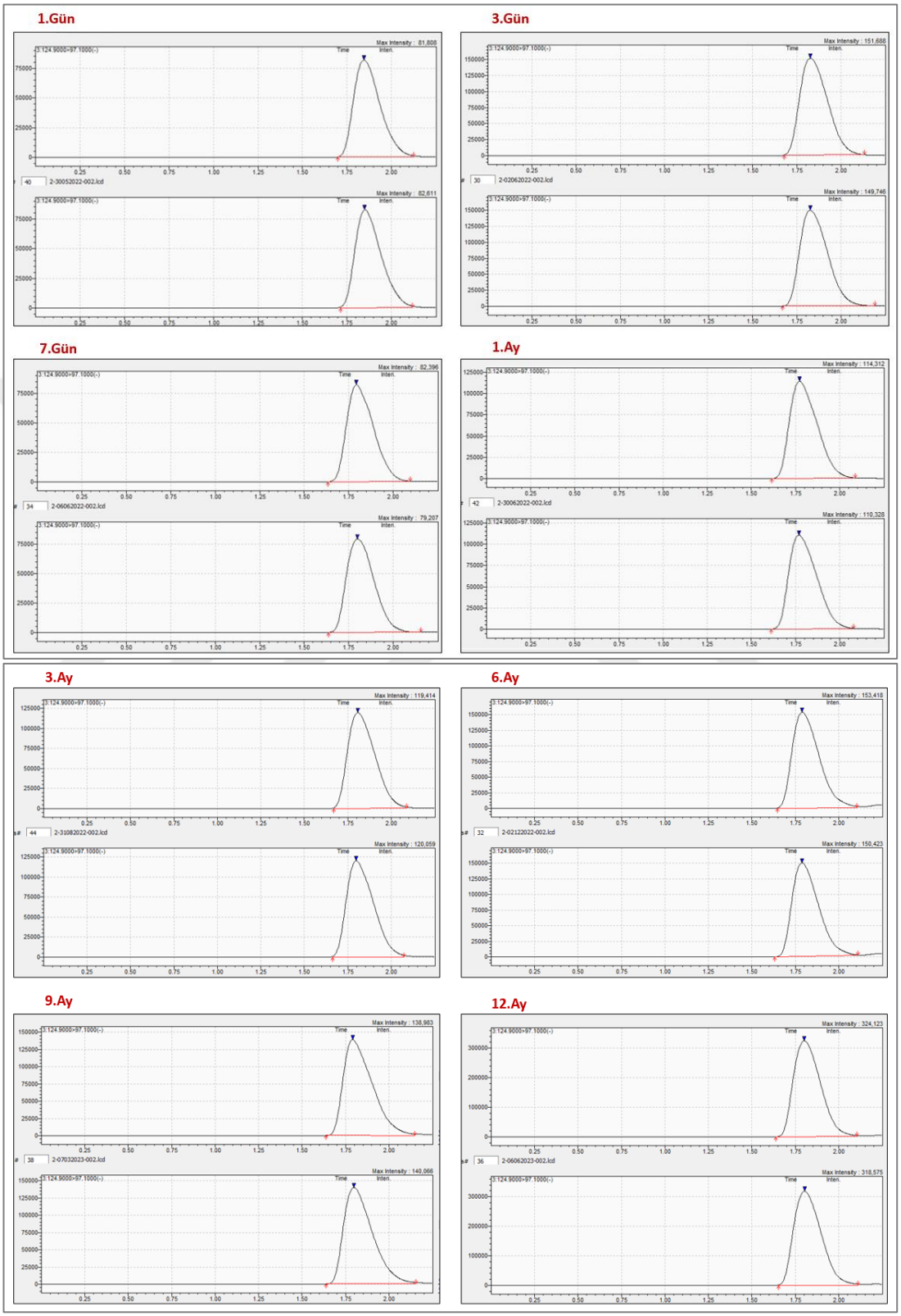
1.gün-EtS 3.ay (p=0,007), EtS 1.gün-EtS 9.ay (p<0,001), EtS 1.gün-EtS 12.ay (p<0,001), EtS 3.gün- EtS 12.ay (p=0,002), ve EtS 1.ay- EtS 12.ay (p=0,010), EtS 6.ay- EtS 9.ay (p=0,007), EtS 6.ay- EtS 12.ay (p<0,001) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi. Öte yandan EtS 7.gün-EtS 12.ay (p=0,58) arasında ise sınırda anlamlı fark tespit edildi.

Katılımcı 1’in etil sülfat analizine ait kromatogramlar Şekil 3.25’te verilmiştir.



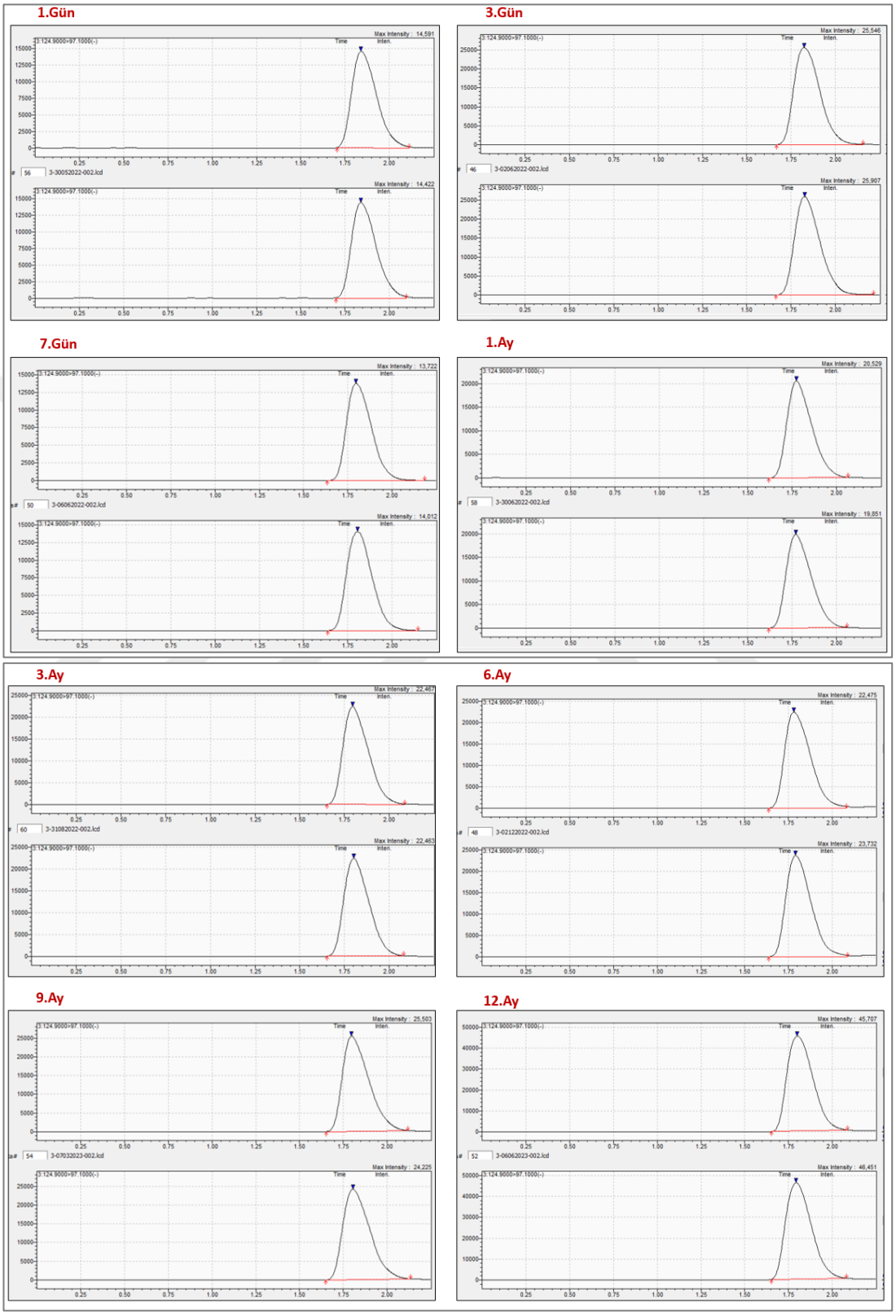
Şekil 3.25. Katılımcı 1 EtS sonuçları

Katılımcı 2'nin etil sülfat analizine ait kromatogramlar Şekil 3.26'da verilmiştir.



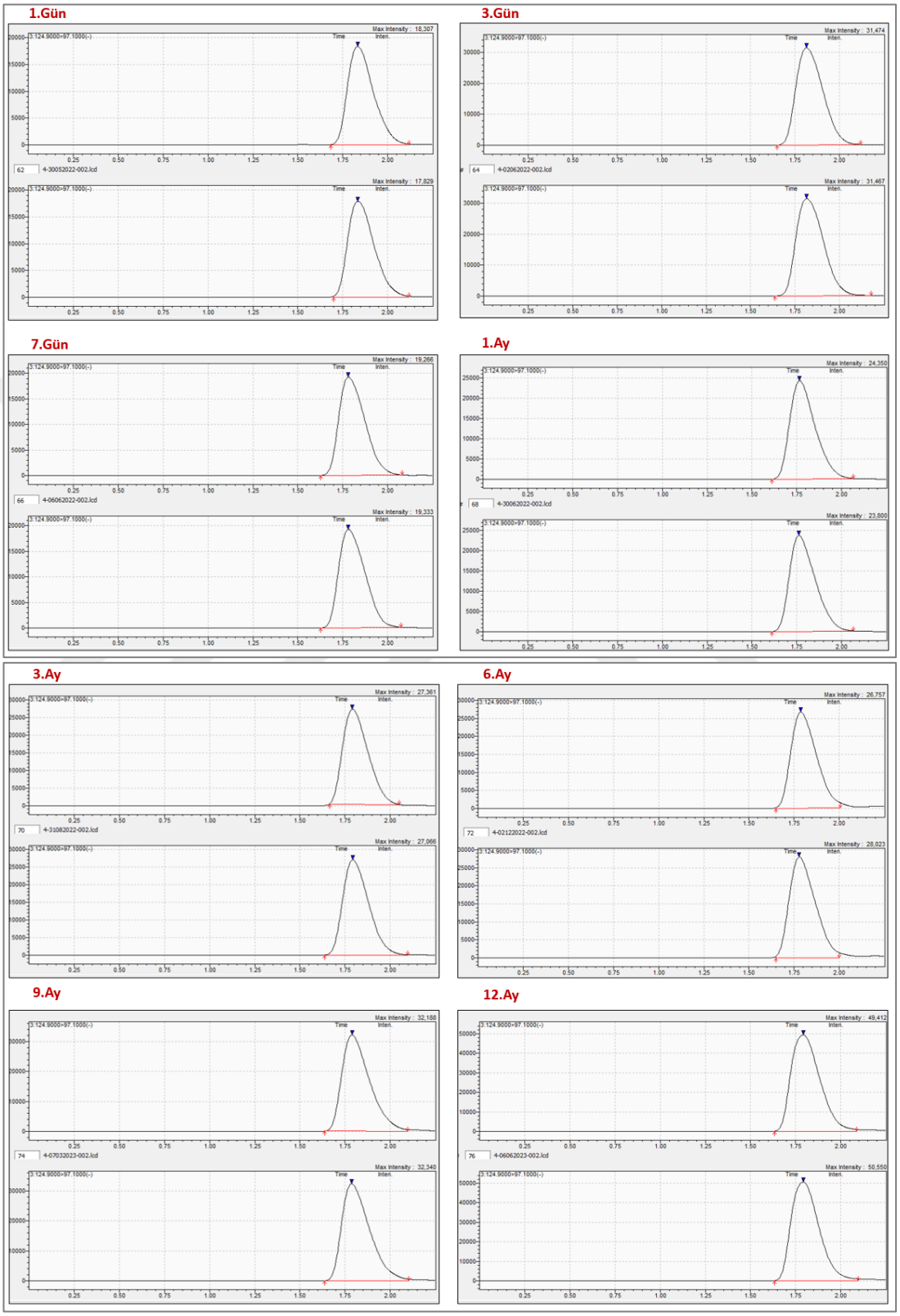
Şekil 3.26. Katılımcı 2 EtS sonuçları

Katılımcı 3'ün etil sülfat analizine ait kromatogramlar Şekil 3.27'de verilmiştir.



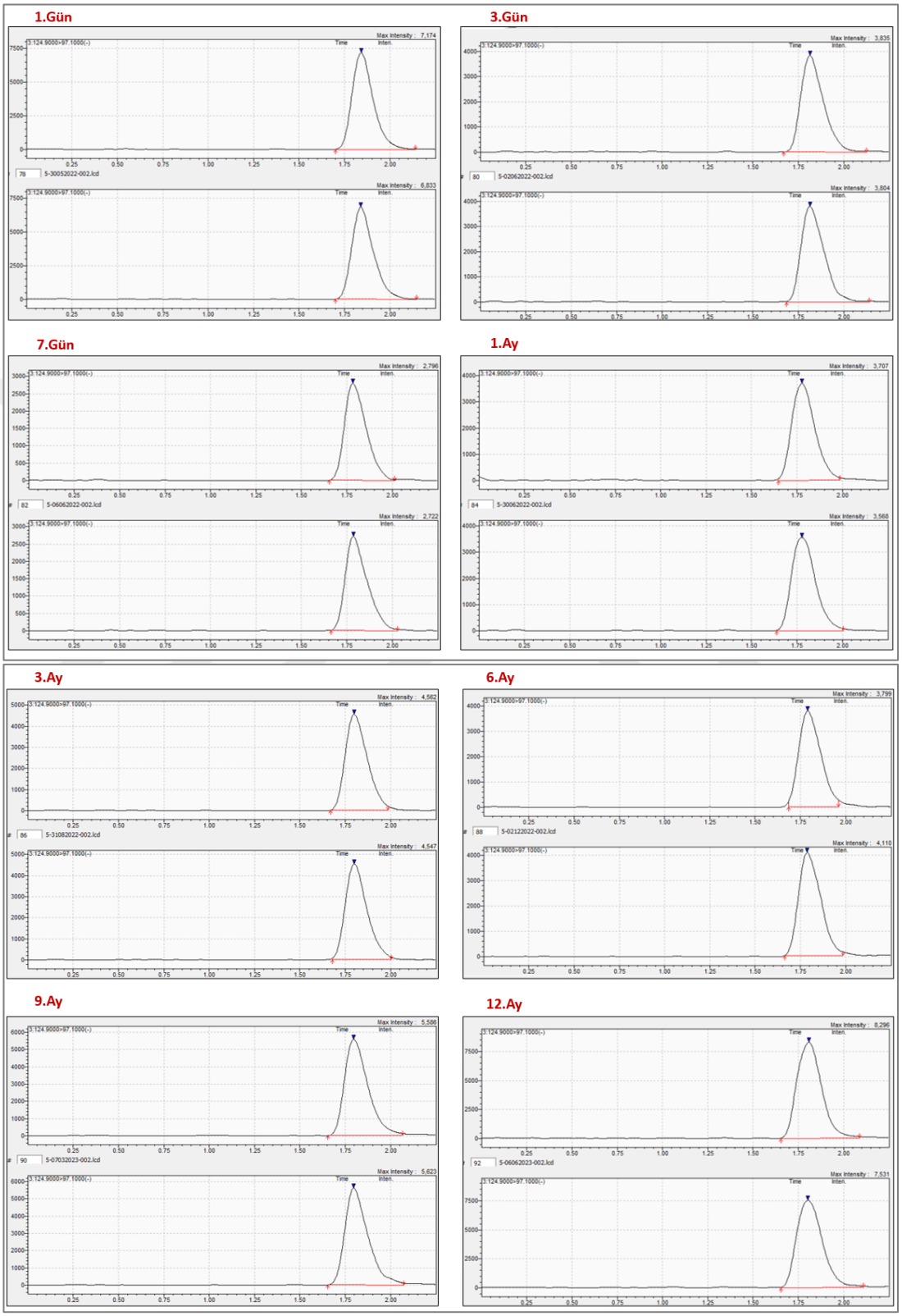
Şekil 3.27. Katılımcı 3 EtS sonuçları

Katılımcı 4'ün etil sülfat analizine ait kromatogramlar Şekil 3.28'de verilmiştir.



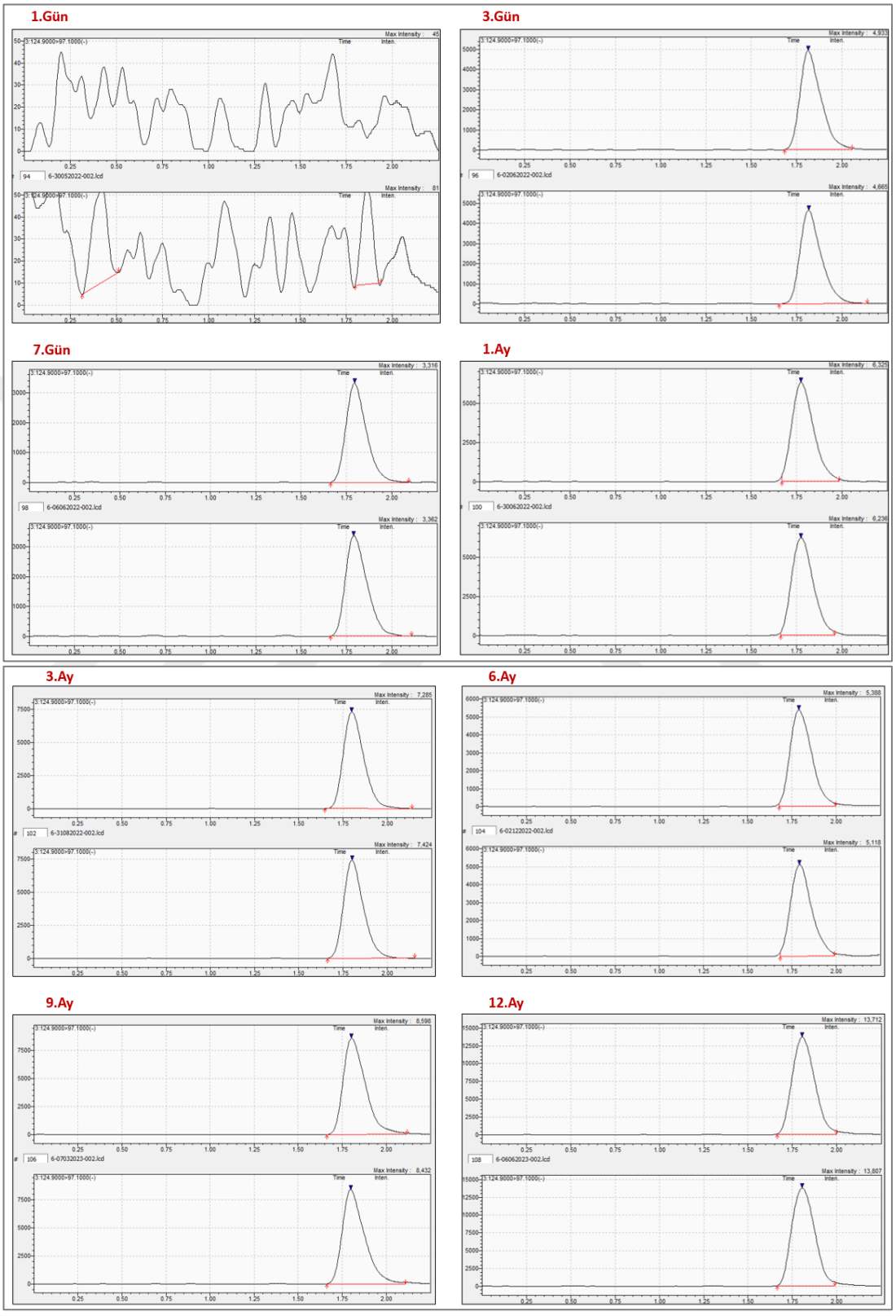
Şekil 3.28. Katılımcı 4 EtS sonuçları

Katılımcı 5'in etil sülfat analizine ait kromatogramlar Şekil 3.29'da verilmiştir.



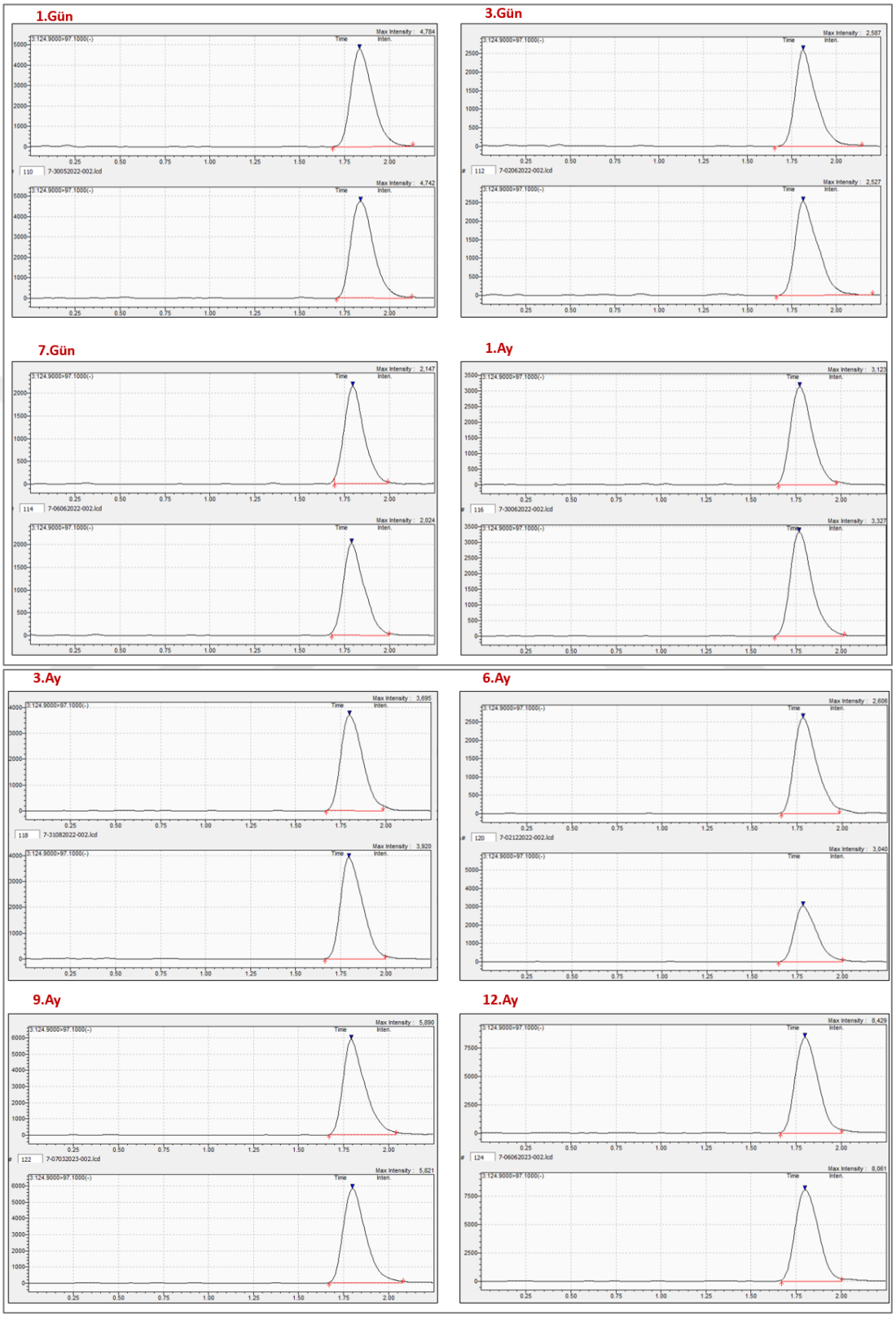
Şekil 3.29. Katılımcı 5 EtS sonuçları

Katılımcı 6'nın etil sülfat analizine ait kromatogramlar Şekil 3.30'da verilmiştir.



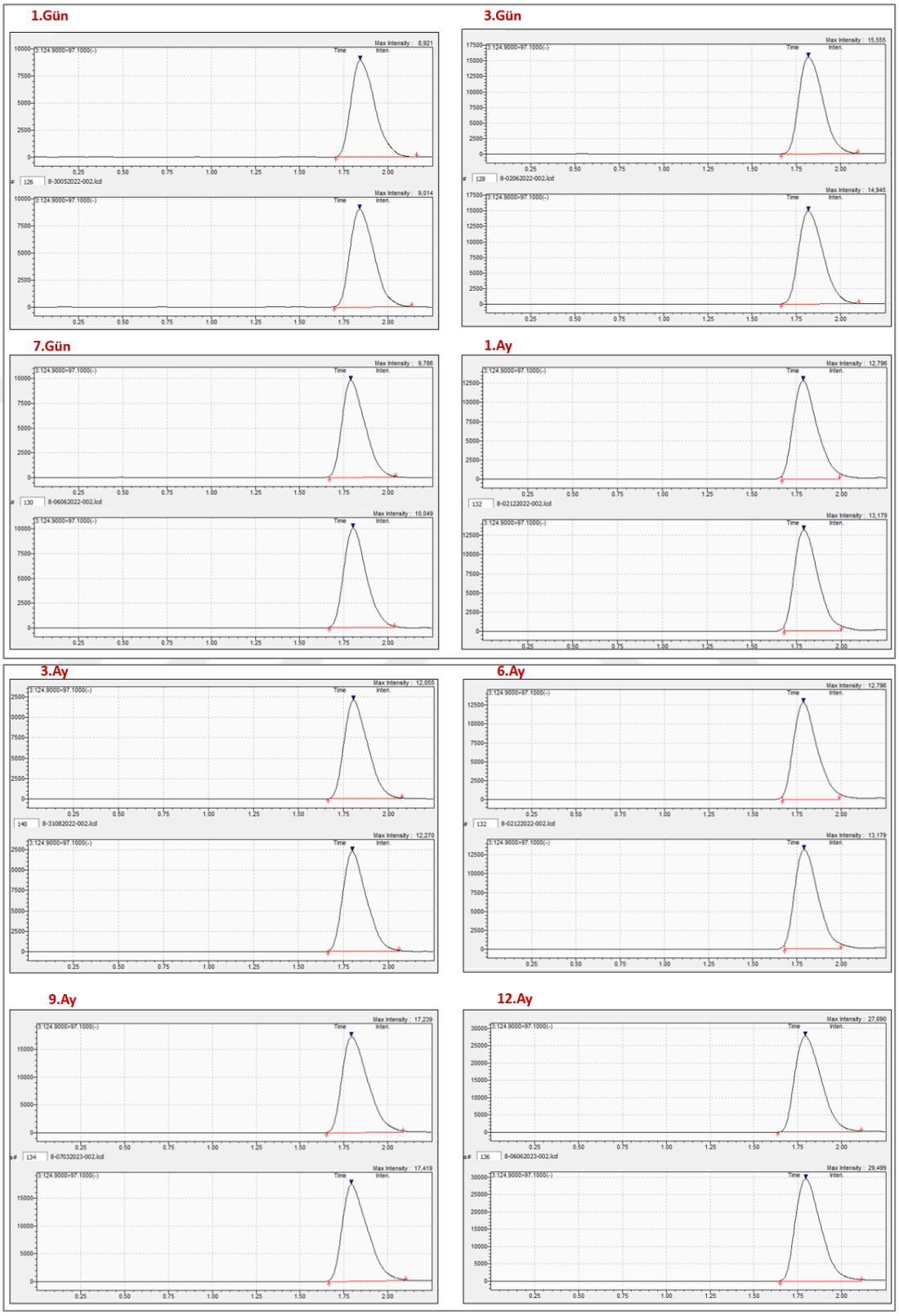
Şekil 3.30. Katılımcı 6 EtS sonuçları

Katılımcı 7'nin etil sülfat analizine ait kromatogramlar Şekil 3.31'de verilmiştir.



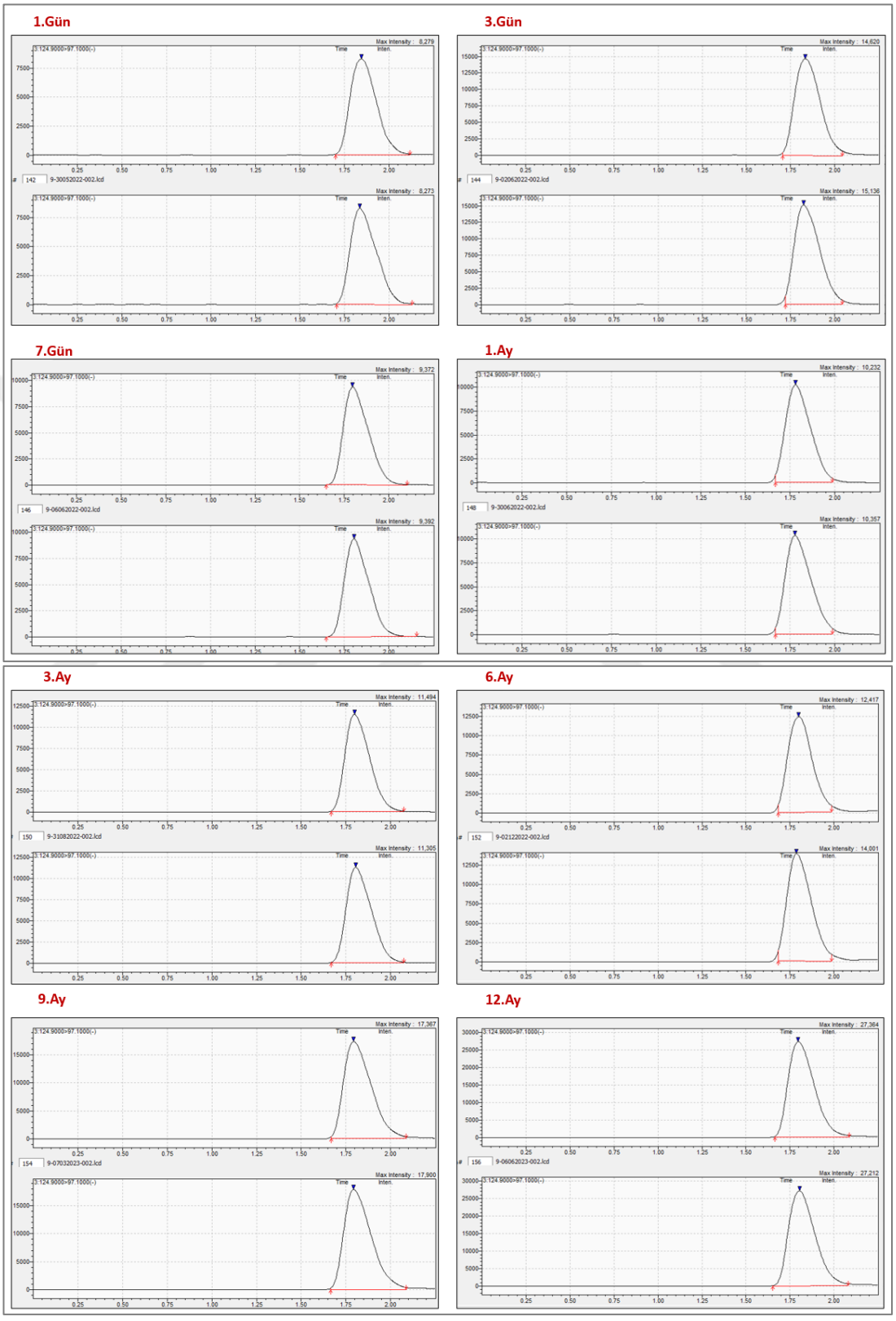
Şekil 3.31. Katılımcı 7 EtS sonuçları

Katılımcı 8'in etil sülfat analizine ait kromatogramlar Şekil 3.32'de verilmiştir.



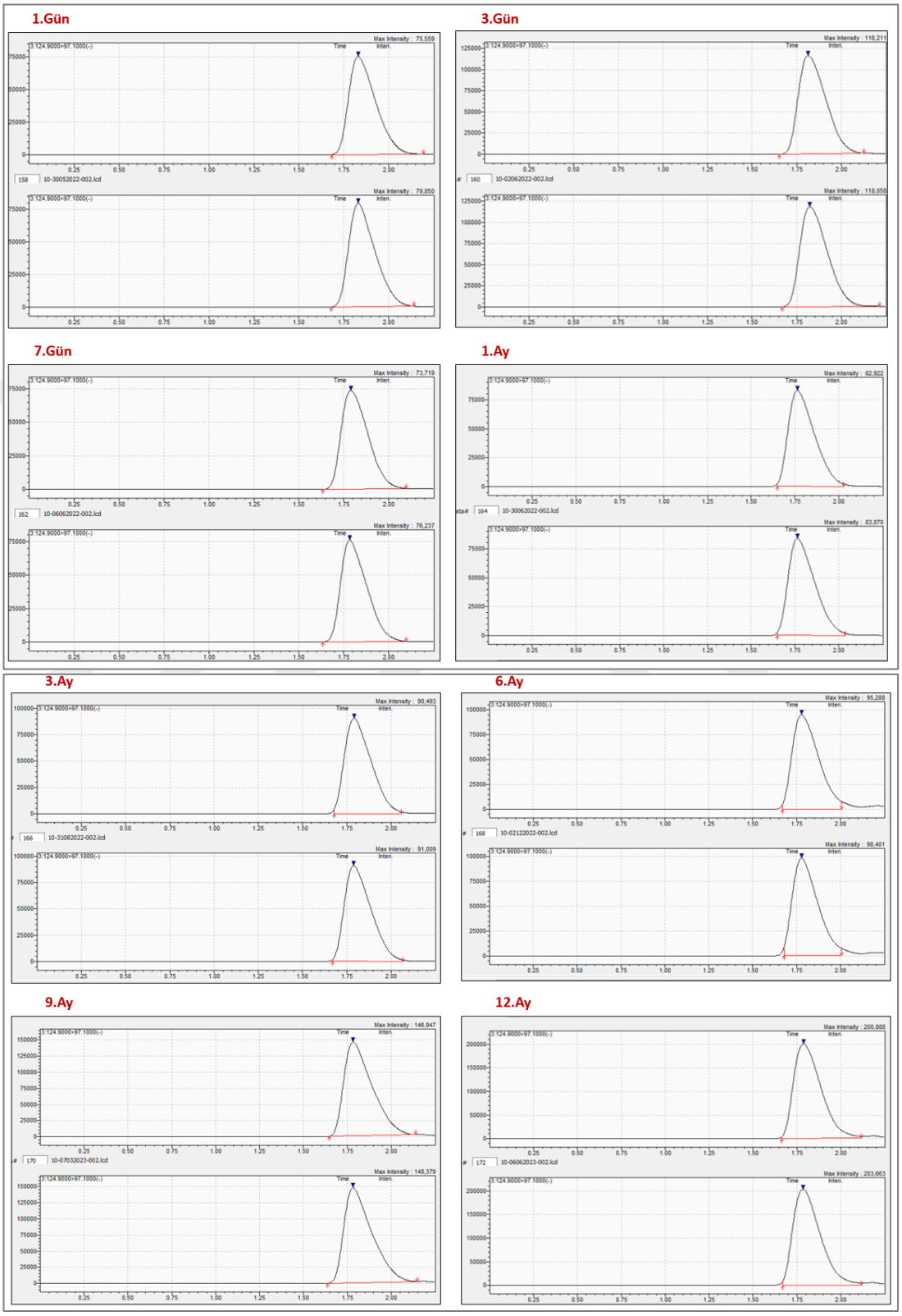
Şekil 3.32. Katılımcı 8 EtS sonuçları

Katılımcı 9'un etil sülfat analizine ait kromatogramlar Şekil 3.33'te verilmiştir.



Şekil 3.33. Katılımcı 9 EtS sonuçları

Katılımcı 10'un etil sülfat analizine ait kromatogramlar Şekil 3.34'te verilmiştir.



Şekil 3.34. Katılımcı 10 EtS sonuçları

Parametrik olmayan korelasyon analizine göre etanol ile EtG ve EtS arasında negatif korelasyon olduğu tespit edilmiş ve sonuçları Çizelge 3.7'de verilmiştir.

Çizelge 3.7. Etanol-EtG ve Etanol-EtS korelasyon sonuçları

	1.Gün Etanol-EtG	**1.Gün Etanol-EtS**	**3.Gün Etanol-EtG**	**3.Gün Etanol-EtS**	**7.Gün Etanol-EtG**	**7.Gün Etanol-EtS**
r değeri	-0,186	-0,170	-0,32	-0,28	-0,31	-0,28

EtG ve EtS arasında ise pozitif korelasyon olduğu tespit edilmiş ve sonuçları Çizelge 3.8'de verilmiştir.

Çizelge 3.8. EtG-EtS korelasyon sonuçları

	1.Gün EtG-EtS	**3.Gün EtG-EtS**	**7.Gün EtG-EtS**	**1.Ay EtG-EtS**	**3.Ay EtG-EtS**	**6.Ay EtG-EtS**	**9.Ay EtG-EtS**	**12.Ay EtG-EtS**
r değeri	0,817	0,842	0,855	0,867	0,927	0,867	0,879	0,842

Katılımcıların her bir zaman diliminde yapılan EtG ve EtS ölçüm sonuçlarına ilişkin grafik Şekil 3.35'te verilmiştir.



Şekil 3.35. Katılımcıların EtG ve EtS analiz grafikleri

4. TARTIŞMA

Adli olayların azaltılması ve refah düzeyi yüksek güvenli alanların inşası suç ve suçlu ile mücadeledeki azim ve kararlılığa bağlıdır. Suç işlemeyi kolaylaştıran, teşvik eden, normalleştiren her türlü unsur mücadele kapsamında hedef alınmaktadır. Suç işlemeyi kolaylaştıran etmenler arasında kullanımı muhakeme gücünü azaltan, şiddete eğilimi arttıran, sosyal ve toplumsal düzeni olumsuz etkileyen madde ve alkol gibi her tür bağımlılığın ön sırada olduğu söylenebilir.

Alkol üretimi ve tüketimi insanın yer yüzünde var oluşu kadar eskiye dayanmaktadır. Son yıllarda alkol tüketim miktarı artış gösterirken alkol tüketmeye başlama yaşı adölesan döneme kadar düşüş göstermiştir. 15 yaş üzeri dünya nüfusunun yaklaşık olarak yarısı alkol tüketmektedir (OECD, 2021). Alkol tüketimindeki mevcut durum sağlığa olumsuz etkilerinin yanı sıra toplumsal, sosyolojik ve ekonomik etkileri de mercek altına almayı gerekli kılmakta; alkole bağlı hem bireysel ve toplumsal zararları azaltmak için hem de alkol ile ilişkili suçların önlenmesi için küresel yaklaşımlara ihtiyaç olduğunu ortaya koymaktadır.

Tüketilen alkolün büyük bölümü oksidatif olarak metabolize olurken küçük bir kısmı oksidatif olmayan yol ile metabolize olmaktadır. Doğrudan etanol metabolitleri arasında yer alan ve oksidatif olmayan etanol metabolizması sonucu oluşan metabolitlerden etil glukuronid ve etil sülfat, etanole göre uzun eliminasyon süresine sahiptir. Bu özellik alkol tayininde hızlı elimine olan etanol yerine metabolitlerinin biyobelirteç olarak kullanımını ön plana çıkarmış olup etanol ile alkol tayininin mümkün olmadığı durumlarda metabolitler aracılığı ile yakın dönem alkol tüketimine dair bilgi sağlamayı mümkün kılmıştır (Helander ve Dahl, 2005).

Adli olaylarda kişilerin alkol tüketip tüketmediğinin, tüketti ise miktarının belirlenmesi önem arz etmektedir. Adli olayların doğası gereği pürüzsüz olay akışı, işlem sıralaması ve uygun zamanlama çoğu zaman mümkün olamamaktadır. Bu nedenle olayın gerçekleştiği anda kişiye erişim, uygun örneğin alınması ve analizi pratikte uygulama güçlüğü barındıran süreçlerdir (Ialongo, 2024). Analiz sonucuna itiraz, tekrar analize ve doğrulamaya ihtiyaç gibi nedenlerle rutin uygulamada kişilerden kan örneği hem test amacıyla hem de şahit numune olarak saklanmak üzere eş zamanlı alınmaktadır. Bu tez çalışması kapsamında biyolojik çalışma materyali olarak, uzman personel ile gerçekleştirilmesi gereken basit ancak girişimsel bir işlem ile temini mümkün olan kan yerine özellikle olay anına ait kan örneğinin bulunmadığı vakalarda yakın geçmişe ait alkol kullanım bilgisini verebilen ve temini daha basit olan idrar

tercih edilmiştir. Ayrıca kan örneğine kıyasla idrar örneğinin daha fazla miktarda eldesinin mümkün olması da bir avantaj olmuştur. Tanı, teşhis ve tedavi amacıyla gerçekleştirilen klinik analizlerde olduğu gibi adli amaçlı gerçekleştirilen analizlerde de çalışılacak örneğin stabilite süresinin ve koşullarının bilinmesi gereklidir. İdrar örneğinin alkol tayininde stabilitesine ilişkin literatürde kısıtlı çalışma bulunmaktadır. Bu tez çalışmasının amacı, literatüre kısıtlı olan bu alanda katkı sağlama ve kan dışında rutin uygulamalara dahil edilebilecek temini kolaylık bakımından bir avantaj olan idrar örneklerinin uzun dönem stabilitesinin etanol, etil glukuronid ve etil sülfat düzeylerinin analizi ile belirlenmesidir.

Tez çalışması kapsamında idrar örnekleri toplanmadan 10-12 saat önce alkol tüketen katılımcılardan 3'ünde idrar etanol sonucu negatif tespit edildi. Bu durum tüketilen alkol miktarına, midenin boş olması vb. nedenlerle alkolün vücutta hızlı elimine olduğunu düşündürmektedir. Nitekim negatif etanol tespit edilen katılımcıların EtG ve EtS düzeyleri alkol tüketimini doğrulamaktadır.

Etanol analizinin 1., 3. ve 7. gün ölçümlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiş olup 1 haftalık süreçte -20ºC'de saklanan ve aynı numunenin 2 kez dondurulup çözdürülmesi ile gerçekleştirilen analizlerde numunelerin stabil kaldığı değerlendirilmiştir. Neuteboom ve Zweipfenning tarafından idrar örneklerinde alkol konsantrasyon stabilitesinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen çalışmada, araştırmacılar -10ºC'de 12 ay boyunca sakladıkları hem hava geçirmez ve açılmış hem de dondurulmuş çözülmüş tüplerdeki örneklerde etanol seviyesinin sınırlı düşüşe rağmen stabil olduğunu gözlemlemiş olup bu koşullarda idrar örneği saklamanın adli amaçlı analizler için uygun olduğu sonucuna varmışlardır (Neuteboom ve Zweipfenning, 1989). Mandic-Radic ve arkadaşları tarafından kan ve idrar örneklerinin stabilitesine yönelik gerçekleştirilen kapsamlı çalışmada, 15 örnekten oluşan 6 grupta önemli sonuçlar elde edilmiştir. Alkol konsantrasyonu yüksek sıcaklık ve uzun saklama süresi ile düşüş göstermiş iken 1 ay boyunca -20ºC'de saklanan tam kan örneklerinde anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. 14 gün boyunca oda sıcaklığında koruyucu içermeyen tüpte saklanan idrar örneklerinin stabil olmadığını ancak, 3 ay boyunca 4 ºC'de ve 6 ay boyunca -20ºC'de koruyucu içermeyen tüpte saklanan idrar örneklerinin stabil olduğu sonucuna varılmıştır. Araştırmacılar saklama süresinden bağımsız olarak oda sıcaklığında örnek saklamanın uygun bir yaklaşım olmadığı bildirirken, kan ve idrar örnekleri arasında güvenilirlik yönünden bir fark olmadığını belirtmişlerdir (Mandic-Radic vd., 2007). Etanol stabilitesine yönelik olarak bulgularımız literatür ile uyum göstermektedir.

Tüketilen alkol miktarının %1'den daha az bir kısmı oksidatif olmayan yollar ile metabolize olurken, %0,02-0,06'sı EtG ve %0,010-0,016'sı ise EtS olarak idrar ile atılmaktadır (Maenhout vd., 2013). EtG ve EtS parametrelerinin bilgi sağladığı zaman aralığı benzerlik göstermekle birlikte, bu iki metabolitin birlikte çalışılması tercih edilmektedir (Wurst vd., 2006).

Mevcut çalışma verileri EtG'nin aksine bakteri varlığından klinik ve post-mortem örneklerde EtS'nin daha stabil olduğunu ortaya koymuş (Baranowski vd., 2008; Helander ve Dahl, 2005; Helander vd., 2007) olmakla birlikte, aşırı bakteriyel faaliyet ve ileri seviye pütrifikasyon durumunda EtG gibi EtS'nin de olumsuz etkilendiği belirlenmiştir (Halter vd., 2009). Schloegl ve arkadaşları tarafından EtG stabilitesine yönelik olarak antemortem idrar ve postmortem kan ve doku örneklerinde gerçekleştirilen çalışmada, 9 gönüllüden alınan idrar örneği ile 7 postmortem vakanın otopsi işleminde alınan kan, karaciğer ve iskelet kası analiz edilmiştir. Oda sıcaklığında ve 4ºC'de saklanan 9 idrar örneğinin EtG konsantrasyonları karşılaştırılmış; 5 hafta boyunca 4ºC'de saklanan örnekler stabil kalırken, oda sıcaklığında saklanan örneklerde EtG konsantrasyonu değişkenlik göstermiş olup konsantrasyon artışı hava alan tüplerde saklanan bu örnekler için örneklerdeki suyun buharlaşması ile ilişkilendirilmiştir. EtG pozitif olan dokular oda sıcaklığında saklandığında, EtG konsantrasyonunun 4 hafta boyunca yavaş azalış gösterdiği bildirilmiştir. Çalışmaya dahil edilen postmortem dokularda EtG oluşumu gözlenmezken, bu dokulardaki EtG analiz sonucunun antemortem alkol tüketimine bağlı olduğu sonucuna varılmıştır (Schloegl vd., 2006).

Tez çalışması kapsamında hiçbir analiz zamanında EtG ve EtS analizi negatif olan katılımcı bulunmamaktadır. EtG ve EtS analiz sonuçlarını genel ve katılımcılar özelinde bireysel olarak değerlendirdiğimizde bazı zamanlarda önceki analize göre artış olduğu görülmektedir. EtG analiz sonuçlarına göre katılımcı 1'in 7.gün, 1.ay ve 6.ay, katılımcı 2'nin 7.gün ve 3.ay, katılımcı 3 ve 4'ün 1.ay ve 3.ay, katılımcı 5 ve 7'nin 3.ay, katılımcı 8'in 7.gün, 1.ay, 3.ay ve 9.ay, katılımcı 10'un 7.gün ve 1.ay ölçüm sonuçları bir önceki ölçümlerine göre artış göstermiştir. EtG analizine yönelik bu durumun literatür dikkate alındığında numunede mevcut suyun buharlaşmasıyla daha konsantre hale gelmesine bağlı olarak gerçekleşmiş olabileceği değerlendirilmiştir. Artışın tüm zamanlarda devamlılık göstermemesi artışın diyabet gibi faktörlere bağlı gelişmesi ihtimalini dışlamamıza imkan sağlamıştır. Öte yandan analiz sonuçlarında keskin azalış ve sıfırlanma gibi durumların olmaması bakteriyel enfeksiyon gibi durumların varsa da çalışma sonucunu etkileyici düzeyde olmadığını göstermektedir. EtS analizi EtG'ye kıyasla daha stabil iken çalışmada EtG'de olduğu gibi bir

önceki analiz sonucuna göre artış EtS'de de görülmüştür. Ancak hem EtG hem de EtS analiz sonuçlarına göre hiçbir katılımcının 1.gün analiz sonucuna göre 12.ay analiz sonucunda artış saptanmamıştır. 1 yıl aynı koşullar altında saklanan idrar numunelerinin 1.gün ile 12.ay arasındaki ortalama azalış yüzdesi EtG için %41 ve EtS için %36,7'dir. Katılımcılar özelinde azalış yüzdesini bireysel değerlendirdiğimizde katılımcı 1 (EtG %23,6 EtS %26,8), katılımcı 2 (EtG %33,8 EtS %34,9), katılımcı 3 (EtG %33,7 EtS %36,7), katılımcı 4 (EtG %32,4 EtS %37,4), katılımcı 5 (EtG %76,9 EtS %62,7), katılımcı 6 (EtG %42,2 EtS %28,9), katılımcı 7 (EtG %79,6 EtS %70,3), katılımcı 8 (EtG %36,2 EtS %21,3) katılımcı 9 (EtG %26,9 EtS %15,7) ve katılımcı 10 (EtG %24,4 EtS 32,1). EtG ve EtS azalışı %50'nin üzerinde olan 2 katılımcının (5 ve7) her 2 parametre içinde ilk gün analiz sonucu en düşük katılımcılar olması, uzun dönem saklamanın düşük analiz sonucuna sahip örneklerde yüksek oranda azalış gösterme potansiyeline sahip olduğu şeklinde yorumlanabilir.

Dresen ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen çalışmada, 9-49 g alkol tüketen 9 gönüllüde, tüketimden sonra EtG ve EtS tespitinin 26-36 saatte kadar mümkün olduğu saptanmıştır. İdrar etanol seviyesine kıyasla bu metabolitlerinin tüketim sonrası tespit süresinin etanolden 16-27 saat daha uzun olduğunu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, idrar örneklerinin oda sıcaklığında 20 güne kadar saklanması durumunda EtS'de anlamlı degredasyon olmadığı ve stabil olduğu bildirilmiştir. (Dresen vd., 2004). EtG ve EtS pozitif idrar örneklerinin 3 hafta boyunca 3 farklı sıcaklık koşulunda (oda sıcaklığı, 4°C ve -20°C) saklandığı çalışmada 18 analiz sonucundan 17'sinde ortalamaya göre sapmanın %10'un altında olduğu tayin edilmiş olup bu veri EtS'nin iyi bir stabiliteye sahip olabileceğinin göstergesi olarak yorumlanmıştır (Wurst vd., 2006). Öte yandan 1 analizde belirlenen %10,9 sapmanın -20 ^{o}C'de saklanan örneğe ait olması dikkat çekicidir; 3 hafta süren bu çalışmada sapmanın en yüksek olduğu zaman çalışmanın ortalarındaki analize tekabül etmekte iken çalışma sonundaki analizde sapma ortalamaya yakın seyir göstermiştir. 12 ay süre zarfında 8 farklı zamanda gerçekleştirdiğimiz EtG ve EtS analizlerinin ilk gün ve son gün sonuçları arasındaki analiz sonuçlarında dalgalanma olduğu görülmekte iken çoğunlukla ara analiz sonuçları ilk gün analiz sonucunun altında son gün analiz sonucunun da üzerindedir. EtG analizinde 1.gün ile 6.aya kadar gerçekleştirilen ara analizler arasında anlamlı fark tespit edilememiş olup EtG'nin stabil olduğu ancak 1.gün ile 6.ay ($p=0,015$), 1.gün ile 9.ay ($p<0,001$) ve 1.gün ile 12.ay ($p<0,001$) arasında EtG düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı azaldığı tespit edilmiştir. Öte yandan EtS analizinde 1.gün ile 3.aya kadar gerçekleştirilen ara analizler arasında anlamlı fark tespit edilememiş olup 1.gün ile 3.ay ($p=0,007$), 1.gün ile 9.ay

($p<0,001$) ve 1.gün ile 12.ay ($p<0,001$) arasından EtS seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı azaldığı belirlenmiştir.

Tez kapsamında çalışılan parametreler arasındaki ilişkinin literatür ile uyumlu olduğu saptanmış; etanol ile EtG ve etanol ile EtS arasında negatif korelasyon mevcut iken, EtG ve EtS parametreleri arasında kuvvetli pozitif korelasyon bulunmuştur.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Dünyada adli ve toksikolojik amaçlı gerçekleştirilen yaygın analizlerden biri alkol tayinidir. Bu tez çalışması kapsamında uzun dönem saklanan idrar örneklerinde alkol tayininde kullanılan rutin analiz parametresi olan etanol ve rutin analiz parametreleri arasında yer almayan ancak etanol metabolizmasının ürünü olarak ortaya çıkan ve alkol tüketim belirteci olarak kabul gören etil glukuronid ve etil sülfat stabilite çalışması gerçekleştirilmiştir.

Literatürde etanol stabilitesi farklı biyolojik materyallerde sık çalışılmış olmasına rağmen etanol metabolitlerinin stabilitelerine ilişkin çalışmalar oldukça sınırlı olup bu alanda bilimsel bilgi birikimine olan ihtiyaç her geçen gün artmaktadır. Söz konusu bu parametreler adli analizlerin yanı sıra bağımlılığın izleminde ve tedavisinde, sağlıklı gebelik takibinde, iş sağlığı ve güvenliği bakımından çeşitli iş kollarında görev alan kişilerde vb. farklı alanlarda ancak benzer amaçlarla gerçekleştirilmektedir. Bu nedenle çalışma neticesinde elde ettiğimiz veri adli amaçlı gerçekleştirilen alkol tayini ile sınırlı değildir.

Bu tez çalışması neticesinde -20ºC'de saklanan ve 2 kez dondurulup çözülen idrar örneklerinde etanol konsantrasyonunun 1 hafta boyunca stabil kaldığı belirlendi. -20ºC'de saklanan ve 4 kez dondurulup çözülen idrar örneklerinde EtG seviyesi 3 ay boyunca stabil iken aynı koşullarda saklanan ve 3 kez dondurulup çözülen örneklerin EtS seviyesinin 1 ay boyunca stabil kaldığı saptandı. -20ºC'de 1 yıl boyunca saklanan ve ara analizler için 7 kez dondurulup çözülen idrar örneklerinin EtG ve EtS seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı belirlendi. Etanol ile hem EtG hem EtS arasında negatif korelasyon, EtG ve EtS arasında pozitif korelasyon saptandı.

İleri çalışmalar için örneklemdeki katılımcı sayısının arttırılması ve katılımcılardan alınan idrar örneğine ek olarak kan ve tükürük gibi biyolojik örneklerin alınması önerilmektedir. Katılımcılara tüketimi tamamlamalarını müteakip ve örnek alınmadan önce nefes alkol testi uygulanabilir. Tez kapsamında kronik hastalığı olan bireyler çalışmaya dahil edilmedi ancak, gerçek hayatı yansıtması ve uygulamada kullanılabilirliğinin zengin veri ile analizi için kronik hastalığı olan ve bu nedenle farmakolojik tedavi alan bireylerden oluşan bir grubun olması ve/veya postmortem bir grubun olması önemli veriler sağlayabilir. Katılımcıların çalışmaya dahil edilme kriterleri arasında belirlediğimiz "en az 5 yıldır alkol tüketiyor olma", "alkol kullanım bozukluğuna/bağımlılığına sahip olmama", "tez kapsamında örnek temininden önceki 1 hafta alkol tüketmeme" gibi kriterler gerçek hayata uygun bir

simülasyon için kaldırılabilir veya heterojen özellikte ek çalışma grubu oluşturulabilir. Analiz parametreleri arttırılabilir; etanol, EtG ve EtS'ye ek olarak Peth ve YAEE gibi parametreler eklenebilir. Dondurma ve çözme işlemin analiz sonucuna etkisini belirlemek için çalışmaya, ara analizler yapılmayan bir grup eklenebilir. Çalışma kapsamında idrar örnekleri sadece steril kaplarda toplanmış iken uzun zaman stabilitenin sağlanmasına katkı sağlayabilecek çeşitli koruyucular içeren kaplara da örnek toplanabilir. Örneklerin saklama koşulları tez kapsamındaki -20ºC'nin yanı sıra farklı sıcaklık koşulları ile çeşitlendirilebilir. Uzun dönem olarak tez kapsamında belirlediğimiz 12 ay örnek saklama süresi yıllara sari olarak uzatılabilir. Sonuç olarak, yukarıda sayılan farklı ölçeklerdeki deney gruplarıyla daha geniş çalışmaların yapılmasının literatüre katkı sağlayacağı görüşündeyiz.

KAYNAKLAR

Aboutara, N., Jungen, H., Szewczyk, A., Sterneck, M., Muller, A., & Iwersen-Bergmann, S. (2021). Analysis of six different homologues of phosphatidylethanol from dried blood spots using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Drug Test Anal*, *13*(1), 140-147. https://doi.org/10.1002/dta.2910

Adli Tıp Kurumu Alkol Birimi Kan Örneği Kabul Koşulları. (2024). https://www.atk.gov.tr/kan-ornegi-kabul.html

Adli Tıp Kurumu Kanunu Uygulama Yönetmeliği. (2004). Resmi Gazete Retrieved from https://www.mevzuat.gov.tr/File/GeneratePdf?mevzuatNo=7076&mevzuatTur=KurumVeKurulusYonetmeligi&mevzuatTertip=5

Al-Asmari, A. I., Altowairgi, M. M., & Al-Amoudi, D. H. (2022). Effects of postmortem interval, putrefaction, diabetes, and location of death on the analysis of ethyl glucuronide and ethyl sulfate as ethanol biomarkers of antemortem alcohol consumption. *Forensic Sci Int*, *335*, 111280. https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2022.111280

Alpaydın, S., & Şimşek, A. (2016). *Genel Kimya* (11 ed.). Eğitim Yayınevi.

Andresen-Streichert, H., Muller, A., Glahn, A., Skopp, G., & Sterneck, M. (2018). Alcohol Biomarkers in Clinical and Forensic Contexts. *Dtsch Arztebl Int*, *115*(18), 309-315. https://doi.org/10.3238/arztebl.2018.0309

Annette Akgür, S., Dağlıoğlu, N., & Can, İ. Ö. (2018). İnsan Performans/Davranış Toksikolojisi: Trafikte Alkol ve Madde Kullanımı. In S. Annette Akgür & N. Dağlıoğlu (Eds.), *Temel Adli Toksikoloji* (pp. 25-41). Akademisyen Kitabevi.

Anthony, R. M., Sutheimer, C. A., & Sunshine, I. (1980). Acetaldehyde, methanol, and ethanol analysis by headspace gas chromatography. *J Anal Toxicol*, *4*(1), 43-45. https://doi.org/10.1093/jat/4.1.43

Arıcı, M. (2017). *Fermentasyon Teknolojisi: Bitkisel Fermentasyonlar*.

Arnts, J., Vanlerberghe, B. T. K., Roozen, S., Crunelle, C. L., Masclee, A. A. M., Olde-Damink, S. W. M., Heeren, R. M. A., van Nuijs, A., Neels, H., Nevens, F., & Verbeek, J. (2021). Diagnostic Accuracy of Biomarkers of Alcohol Use in Patients With Liver Disease: A Systematic Review. *Alcohol Clin Exp Res*, *45*(1), 25-37. https://doi.org/10.1111/acer.14512

Ata Öztürk, H. K., Güngör, A. Y., & Kurtuluş Dereli, A. (2023). Postmortem Adli Tıbbi İncelemelerde Şahit Kan Numunesinin Önemi: Metanol İntoksikasyonu. *Adli Tıp Bülteni*, *28*(1), 101-104. https://doi.org/10.17986/blm.1608

Baduroğlu, E., & Durak, D. (2010). Alkol İle İlgili Adli Tıp Sorunları. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, *36*(2), 65-71.

Baranowski, S., Serr, A., Thierauf, A., Weinmann, W., Grosse Perdekamp, M., Wurst, F. M., & Halter, C. C. (2008). In vitro study of bacterial degradation of ethyl glucuronide and ethyl sulphate. *Int J Legal Med*, *122*(5), 389-393. https://doi.org/10.1007/s00414-008-0229-3

Bellis, M. A., Quigg, Z., Hughes, K., Ashton, K., Ferris, J., & Winstock, A. (2015). Harms from other people's drinking: an international survey of their occurrence, impacts on feeling safe and legislation relating to their control. *BMJ Open*, *5*(12), e010112. https://doi.org/10.1136/bmjopen-2015-010112

Berger, L., Fendrich, M., Jones, J., Fuhrmann, D., Plate, C., & Lewis, D. (2014). Ethyl glucuronide in hair and fingernails as a long-term alcohol biomarker. *Addiction*, *109*(3), 425-431. https://doi.org/10.1111/add.12402

Bornhorst, J. A., & Mbughuni, M. M. (2019). Alcohol Biomarkers: Clinical Issues and Analytic Methods. In D. A. (Ed.), *Critical Issues in Alcohol and Drugs of Abuse Testing* (2 ed.). Academic Press.

Bortolotti, F., & Tagliaro, F. (2011). Biomarkers for the Identification of Alcohol Use/Abuse: A Critical Review. *Forensic Sci Rev*, *23*(2), 55-72. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26231235

Brummer, J., Bloomfield, K., Karriker-Jaffe, K. J., & Hesse, M. (2022). Hazardous drinking and violence-related hospitalizations in the Danish general population: A historical cohort study. *Drug Alcohol Depend*, *233*, 109338. https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2022.109338

Bujaroska, M., Bozhinoska, Z., Vujovic, M., Milosavljevic, B., Stankov, A., Petreska Ivanovska, T., Poposka, V., & Petrushevska Tozi, L. (2022). Development and Validation of a Quantitative HS-GC/FID Method for Alcohol Analysis in Biological Samples: Stability Assesment. *Romanian Journal of Legal Medicine 30*(1), 53-59. https://doi.org/10.4323/rjlm.2022.53

Chalifa-Caspi, V., Eli, Y., & Liscovitch, M. (1998). Kinetic analysis in mixed micelles of partially purified rat brain phospholipase D activity and its activation by phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate. *Neurochem Res*, *23*(5), 589-599. https://doi.org/10.1023/a:1022422418388

Chalk, S. (2023). *The IUPAC Gold Book: Compendium of Chemical Terminology*. https://goldbook.iupac.org

Chang, R. B., Smith, W. A., Walkin, E., & Reynolds, P. C. (1984). The stability of ethyl alcohol in forensic blood specimens. *J Anal Toxicol*, *8*(2), 66-67. https://doi.org/10.1093/jat/8.2.66

Coskun, O. (2016). Separation techniques: Chromatography. *North Clin Istanb*, *3*(2), 156-160. https://doi.org/10.14744/nci.2016.32757

Çoltu, A. (1985). Adli Olgularda Alkol Alımının Değerlendirilmesi. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi,* 3(12), 67-72.

Dasgupta, A. (2011). *The Science of Drinking:How Alcohol Affects Your Body and Mind*. Rowman & Littlefield.

Dasgupta, A. (2015). Direct Alcohol Biomarkers Ethyl Glucuronide, Ethyl Sulfate, Fatty Acid Ethyl Esters, and Phosphatidylethanol. In *Alcohol and Its Biomarkers: Clinical Aspects and Laboratory Determination* (1st ed., pp. 181-220). Elsevier.

Delil Teslim Prosedürleri. (2024). https://www.atk.gov.tr/kimya-ihtisas-dairesi.html

Dresen, S., Weinmann, W., & Wurst, F. M. (2004). Forensic confirmatory analysis of ethyl sulfate--a new marker for alcohol consumption--by liquid-chromatography/electrospray ionization/tandem mass spectrometry. *J Am Soc Mass Spectrom*, *15*(11), 1644-1648. https://doi.org/10.1016/j.jasms.2004.08.004

Dubowski, K. M. (1980). Alcohol determination in the clinical laboratory. *Am J Clin Pathol*, *74*(5), 747-750. https://doi.org/10.1093/ajcp/74.5.747

Erdogan, S., Erel, O., Sen, O., Avcioglu, G., Bal, C., & Baran, P. (2018). Optimal Storage Conditions for Blood Samples, for Later Analysis in Criminal Prosecution Proceedings. *J Immunol Clin Microbiol*, *3*(4), 60-67.

Eurochem. (2014). *Analitik Metotların Amaca Uygunluğu; Metodun Geçerli Kılınması ve İlgili Konular İçin Laboratuvar Kılavuzu*. https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_TR.pdf

Evans, I., Heron, J., Murray, J., Hickman, M., & Hammerton, G. (2021). The Influence of Alcohol Consumption on Fighting, Shoplifting and Vandalism in Young Adults. *Int J Environ Res Public Health*, *18*(7). https://doi.org/10.3390/ijerph18073509

Fakhari, S., & Waszkiewicz, N. (2023). Old and New Biomarkers of Alcohol Abuse: Narrative Review. *J Clin Med*, *12*(6). https://doi.org/10.3390/jcm12062124

Fitterer, J. L., & Nelson, T. A. (2015). A Review of the Statistical and Quantitative Methods Used to Study Alcohol-Attributable Crime. *PLoS One*, *10*(9), e0139344. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0139344

Friesen, E. L., Bailey, J., Hyett, S., Sedighi, S., de Snoo, M. L., Williams, K., Barry, R., Erickson, A., Foroutan, F., Selby, P., Rosella, L., & Kurdyak, P. (2022). Hazardous alcohol use and alcohol-related harm in rural and remote communities: a scoping review. *Lancet Public Health*, *7*(2), e177-e187. https://doi.org/10.1016/S2468-2667(21)00159-6

Geniş, B., Şahin, F., & Gürhan, N. (2022). Alkol/Madde Kullanım Bozukluklarında Şiddet ve İntiharın Nörobiyolojik Temelleri. *Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar*, *14*(2), 264-275. https://doi.org/10.18863/pgy.998217

Gürler, M. (2018). Biyolojik Materyaller ve Örnek Seçimi: Antemortem Biyolojik Materyaller. In S. Annette Akgür & N. Dağlıoğlu (Eds.), *Temel Adli Toksikoloji* (pp. 185-199). Akademisyen Kitabevi.

Halter, C. C., Laengin, A., Al-Ahmad, A., Wurst, F. M., Weinmann, W., & Kuemmerer, K. (2009). Assessment of the stability of the ethanol metabolite ethyl sulfate in standardised degradation tests. *Forensic Sci Int*, *186*(1-3), 52-55. https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2009.01.009

Harris, J. C., Leggio, L., & Farokhnia, M. (2021). Blood Biomarkers of Alcohol Use: A Scoping Review. *Curr Addict Rep*, *8*(4), 500-508. https://doi.org/10.1007/s40429-021-00402-7

Hatip, İ., & Bölükbaşı-Hatip, F. (2021). *Tıbbi Farmakokinetik: Şematik-Temel-Uygulamalı-Klinik*. Pamukkale Üniversitesi Yayınları.

Heier, C., Xie, H., & Zimmermann, R. (2016). Nonoxidative ethanol metabolism in humans-from biomarkers to bioactive lipids. *IUBMB Life*, *68*(12), 916-923. https://doi.org/10.1002/iub.1569

Helander, A., & Dahl, H. (2005). Urinary tract infection: a risk factor for false-negative urinary ethyl glucuronide but not ethyl sulfate in the detection of recent alcohol consumption. *Clin Chem*, *51*(9), 1728-1730. https://doi.org/10.1373/clinchem.2005.051565

Helander, A., Olsson, I., & Dahl, H. (2007). Postcollection synthesis of ethyl glucuronide by bacteria in urine may cause false identification of alcohol consumption. *Clin Chem*, *53*(10), 1855-1857. https://doi.org/10.1373/clinchem.2007.089482

Helander, A., & Zheng, Y. (2009). Molecular species of the alcohol biomarker phosphatidylethanol in human blood measured by LC-MS. *Clin Chem*, *55*(7), 1395-1405. https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.120923

Henderson, E. M., Tappin, D., Young, D., Favretto, D., & Mactier, H. (2023). Assessing maternal alcohol consumption in pregnancy: comparison of confidential postnatal maternal interview and measurement of alcohol biomarkers in meconium. *Arch Dis Child*, *108*(8), 659-664. https://doi.org/10.1136/archdischild-2022-325028

Hoiseth, G., Bernard, J. P., Karinen, R., Johnsen, L., Helander, A., Christophersen, A. S., & Morland, J. (2007). A pharmacokinetic study of ethyl glucuronide in blood and urine: applications to forensic toxicology. *Forensic Sci Int*, *172*(2-3), 119-124. https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2007.01.005

Hoiseth, G., Karinen, R., Christophersen, A., & Morland, J. (2010). Practical use of ethyl glucuronide and ethyl sulfate in postmortem cases as markers of antemortem alcohol ingestion. *Int J Legal Med*, *124*(2), 143-148. https://doi.org/10.1007/s00414-009-0393-0

Hoiseth, G., Karinen, R., Johnsen, L., Normann, P. T., Christophersen, A. S., & Morland, J. (2008). Disappearance of ethyl glucuronide during heavy putrefaction. *Forensic Sci Int*, *176*(2-3), 147-151. https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2007.08.002

Hyun, J., Han, J., Lee, C., Yoon, M., & Jung, Y. (2021). Pathophysiological Aspects of Alcohol Metabolism in the Liver. *Int J Mol Sci*, *22*(11). https://doi.org/10.3390/ijms22115717

Ialongo, C. (2024). Blood alcohol concentration in the clinical laboratory: a narrative review of the preanalytical phase in diagnostic and forensic testing. *Biochem Med (Zagreb)*, *34*(1), 010501. https://doi.org/10.11613/BM.2024.010501

ISO Guide 30: Reference Materials-Selected Terms and Definitions, 3 (2015).

Jastrzebska, I., Zwolak, A., Szczyrek, M., Wawryniuk, A., Skrzydlo-Radomanska, B., & Daniluk, J. (2016). Biomarkers of alcohol misuse: recent advances and future prospects. *Prz Gastroenterol*, *11*(2), 78-89. https://doi.org/10.5114/pg.2016.60252

Jolma, M., Koivu-Jolma, M., Niemela, O., Autti-Ramo, I., & Kahila, H. (2023). Rapid urine screening for ethyl glucuronide from pregnant women as a tool for detecting prenatal alcohol exposure. *BMC Pregnancy Childbirth*, *23*(1), 464. https://doi.org/10.1186/s12884-023-05789-x

Jones, A. W. (2000). Medicolegal Alcohol Determination - Blood- or Breath-Alcohol Concentration? *Forensic Sci Rev*, *12*(1-2), 23-47. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26256024

Jones, A. W. (2006). Urine as a biological specimen for forensic analysis of alcohol and variability in the urine-to-blood relationship. *Toxicol Rev*, *25*(1), 15-35. https://doi.org/10.2165/00139709-200625010-00002

Jones, A. W. (2010). Evidence-based survey of the elimination rates of ethanol from blood with applications in forensic casework. *Forensic Sci Int*, *200*(1-3), 1-20. https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2010.02.021

Jones, A. W. (2019). Alcohol, Its Absorption, Distribution, Metabolism, And Excretion In The Body and Pharmacokinetic Calculations. *Wiley Interdisciplinary Reviews Forensic Science 1*(5). https://doi.org/10.1002/WFS2.1340

Jones, A. W. (2023). Brief history of the alcohol biomarkers CDT, EtG, EtS, 5-HTOL, and PEth. *Drug Test Anal*. https://doi.org/10.1002/dta.3584

Jones, A. W., & Ericsson, E. (2016). Decreases in blood ethanol concentrations during storage at 4 degrees C for 12 months were the same for specimens kept in glass or plastic tubes. *Pract Lab Med*, *4*, 76-81. https://doi.org/10.1016/j.plabm.2016.02.002

Karayolları Trafik Kanunu. (1983). Retrieved from https://www.mevzuat.gov.tr/mevzuatmetin/1.5.2918.pdf

Karayolları Trafik Yönetmeliği. (1997). Retrieved from https://www.mevzuat.gov.tr/MevzuatMetin/yonetmelik/7.5.8182.pdf

Karriker-Jaffe, K. J., Blackburn, N., Graham, K., Walker, M. J., Room, R., Wilson, I. M., Waleewong, O., Gilchrist, G., Ramsoomar, L., & Laslett, A. M. (2023). Can alcohol policy prevent harms to women and children from men's alcohol consumption? An overview of existing literature and suggested ways forward. *Int J Drug Policy*, *119*, 104148. https://doi.org/10.1016/j.drugpo.2023.104148

Kayaalp, S. O. (2002). *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji* (10 ed.). Hacettepe-Taş Yayınları.

Klostranec, J. M., Vucevic, D., Crawley, A. P., Venkatraghavan, L., Sobczyk, O., Duffin, J., Sam, K., Holmes, R., Fedorko, L., Mikulis, D. J., & Fisher, J. A. (2020). Accelerated ethanol elimination via the lungs. *Sci Rep*, *10*(1), 19249. https://doi.org/10.1038/s41598-020-76233-9

Kocak, F. E., Isiklar, O. O., Kocak, H., & Meral, A. (2015). Comparison of blood ethanol stabilities in different storage periods. *Biochem Med (Zagreb)*, *25*(1), 57-63. https://doi.org/10.11613/BM.2015.006

Konopka, T. (2010). History of studies of alcohol toxicology. *Arch Med Sadowej Kryminol*, *60*(2-3), 164-171. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21520539 (Historia badan nad toksykologia alkoholu.)

Kugelberg, F. C., & Jones, A. W. (2007). Interpreting results of ethanol analysis in postmortem specimens: a review of the literature. *Forensic Sci Int*, *165*(1), 10-29. https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2006.05.004

Lansdorp, B., Ramsay, W., Hamidand, R., & Strenk, E. (2019). Wearable Enzymatic Alcohol Biosensor. *Sensors (Basel)*, *19*(10). https://doi.org/10.3390/s19102380

Laurens, J. B., Sewell, F. J. J., & Kock, M. M. (2018). Pre-analytical factors related to the stability of ethanol concentration during storage of ante-mortem blood alcohol specimens. *J Forensic Leg Med*, *58*, 155-163. https://doi.org/10.1016/j.jflm.2018.06.003

Lees, B., Meredith, L. R., Kirkland, A. E., Bryant, B. E., & Squeglia, L. M. (2020). Effect of alcohol use on the adolescent brain and behavior. *Pharmacol Biochem Behav*, *192*, 172906. https://doi.org/10.1016/j.pbb.2020.172906

Lehti, M., & Sirén, R. (2020). The impact of alcohol consumption on homicide : A time-series analysis of three Nordic countries. *European Journal of Criminology*, *17*, 352-369.

Levine, B. S., Caplan, Y. H., & Jones, A. W. (2020). Alcohol. In B. S. Levine & S. Kerrigan (Eds.), *Principles of Forensic Toxicology* (pp. 287-316). Springer.

Liu, Y., Zhang, X., Li, J., Huang, Z., Lin, Z., Wang, J., Zhang, C., & Rao, Y. (2018). Stability of Ethyl Glucuronide, Ethyl Sulfate, Phosphatidylethanols and Fatty Acid Ethyl Esters in Postmortem Human Blood. *J Anal Toxicol*, *42*(5), 346-352. https://doi.org/10.1093/jat/bky010

Lutmer, B., Zurfluh, C., & Long, C. (2009). Potential effect of alcohol content in energy drinks on breath alcohol testing. *J Anal Toxicol*, *33*(3), 167-169. https://doi.org/10.1093/jat/33.3.167

Mackus, M., van de Loo, A., van den Bogaard, W. J. M., Korte-Bouws, G. A. H., Garssen, J., & Verster, J. C. (2021). The 5HTOL/5HIAA Ratio as a Biomarker of Alcohol Hangover. *J Clin Med*, *10*(18). https://doi.org/10.3390/jcm10184241

Maenhout, T. M., De Buyzere, M. L., & Delanghe, J. R. (2013). Non-oxidative ethanol metabolites as a measure of alcohol intake. *Clin Chim Acta*, *415*, 322-329. https://doi.org/10.1016/j.cca.2012.11.014

Maiorella, B., Wilke, C. R., & Blanch, H. W. (2005). Alcohol Production and Recovery. In F. A. (Ed.), *Advances in Biochemical Engineering* (pp. 43-92). Springer.

Mandic-Radic, S., Dzingalasevic, G., & Lukovic, N. (2007). Stability Of Ethanol In Blood And Urine Samples *JMB*, *26*(3), 241-244. https://doi.org/10.2478/v10011-007-0029-1

Maner, B. S., & Moosavi, L. (2022). Mean Corpuscular Volume. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545275/

Marti, V., Augsburger, M., Widmer, C., & Lardi, C. (2021). Significant postmortem diffusion of ethanol: A case report. *Forensic Sci Int*, *328*, 111046. https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2021.111046

Max M. Houck, & Siegel, J. A. (2010). *Fundamentals of Forensic Science* (Y. Doğan, Ed. & Trans. 2 ed.). Academic Press.

Mercan, S., & Türkmen, Z. (2023). *Adli Toksikoloji: Temel Kavramlar ve Prensipler* (S. Mercan & Z. Türkmen, Eds.). İÜC Yayınevi.

Meyer, T., Monge, P. K., & Sakshaug, J. (1979). Storage of blood samples containing alcohol. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)*, *45*(4), 282-286. https://doi.org/10.1111/j.1600-0773.1979.tb02394.x

Moore, T. A. (2020). Ambulatory detoxification in alcohol use disorder and opioid use disorder. *Ment Health Clin*, *10*(6), 307-316. https://doi.org/10.9740/mhc.2020.11.307

Neuteboom, W., & Zweipfenning, P. G. (1989). The stability of the alcohol concentration in urine specimens. *J Anal Toxicol*, *13*(3), 141-143. https://doi.org/10.1093/jat/13.3.141

Niemela, O. (2016). Biomarker-Based Approaches for Assessing Alcohol Use Disorders. *Int J Environ Res Public Health*, *13*(2), 166. https://doi.org/10.3390/ijerph13020166

Nisbet, L. A., DiEmma, G. E., & Scott, K. S. (2023). Drug Stability in Forensic Toxicology. *WIREs Forensic Sci.* https://doi.org/10.1002/wfs2.1481

Nyblom, H., Berggren, U., Balldin, J., & Olsson, R. (2004). High AST/ALT ratio may indicate advanced alcoholic liver disease rather than heavy drinking. *Alcohol Alcohol*, *39*(4), 336-339. https://doi.org/10.1093/alcalc/agh074

OECD. (2021). *Preventing Harmful Alcohol Use*. https://www.oecd.org/health/preventing-harmful-alcohol-use-6e4b4ffb-en.htm

OECD. (2023). *Health at a Glance*. https://www.oecd.org/health/health-at-a-glance/

Olds, M. L., & Jones, A. W. (2024). Preanalytical factors influencing the results of ethanol analysis in postmortem specimens. *J Anal Toxicol*, *48*(1), 9-26. https://doi.org/10.1093/jat/bkad078

Olds, M. L., Kosecki, P. A., & Jones, A. W. (2023). Preanalytical Factors Influencing the Stability of Ethanol in Antemortem Blood and Urine Samples. *J Anal Toxicol*, *47*(5), 403-416. https://doi.org/10.1093/jat/bkad013

Olsen, T., & Hearn, W. L. (2003). Stability of ethanol in postmortem blood and vitreous humor in long-term refrigerated storage. *J Anal Toxicol*, *27*(7), 517-519. https://doi.org/10.1093/jat/27.7.517

Oshaug, K., Kronstrand, R., Kugelberg, F. C., Kristoffersen, L., Morland, J., & Hoiseth, G. (2022). Frequency of postmortem ethanol formation in blood, urine and vitreous humor - Improving diagnostic accuracy with the use of ethylsulphate and putrefactive alcohols. *Forensic Sci Int*, *331*, 111152. https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2021.111152

Ozturk, A., Temel, İ., Yalcindag, A., Ucar, F., & Yay, F. (2022). Verification of enzymatic ethanol analysis method and method comparison with headspace gas chromatography. *Turkish Journal of Biochemistry*, *47*, 557-563.

Öncü, F., Ögel, K., & Çakmak, D. (2001). Alkol Kültürü-1: Tarihsel Süreç ve Meyhane *Bağımlılık Dergisi 2*(3), 133-138.

Özhan, Y., Balku, J., & Sipahi, H. (2020). Nefes Alkol Testinde Yalancı Pozitifliğe Sebep Olan İlaç, Gıda ve Alkolsüz İçecekler. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*, *40*(2), 103-113.

Özkandan, S., & Cabaroğlu, T. (2012). Farklı Tip Türk Rakılarında Temel Uçucu Bileşiklerin Gaz Kromatografisinde Doğrudan Enjeksiyonla Belirlenmesi. *Gıda*, *37*(2), 87-94.

Öztürel, A. (1979). *Adli Tıp*. Sevinç Matbaası.

Palmer, R. B. (2009). A review of the use of ethyl glucuronide as a marker for ethanol consumption in forensic and clinical medicine. *Semin Diagn Pathol*, *26*(1), 18-27. https://doi.org/10.1053/j.semdp.2008.12.005

Patra, J., Rehm, J., & Popova, S. (2011). Avoidable alcohol-attributable criminality and its costs due to selected interventions in Canada. *Int J Drug Policy*, *22*(2), 109-119. https://doi.org/10.1016/j.drugpo.2010.10.008

Perilli, M., Toselli, F., Franceschetto, L., Cinquetti, A., Ceretta, A., Cecchetto, G., & Viel, G. (2023). Phosphatidylethanol (PEth) in Blood as a Marker of Unhealthy Alcohol Use: A Systematic Review with Novel Molecular Insights. *Int J Mol Sci*, *24*(15). https://doi.org/10.3390/ijms241512175

Peterson, K. (2004). Biomarkers for alcohol use and abuse--a summary. *Alcohol Res Health*, *28*(1), 30-37. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19006989

Petrucci, R. H., Herring, F. G., Madura, J. D., & Bissonnette, C. (2010). *General Chemistry: Principles and Modern Applications* (10 ed.). Pearson.

Pierobon, M., Barak, M., Hazrati, S., & Jacobsen, K. H. (2013). Alcohol consumption and violence among Argentine adolescents. *J Pediatr (Rio J)*, *89*(1), 100-107. https://doi.org/10.1016/j.jped.2013.02.015

Politi, L., Morini, L., Groppi, A., Poloni, V., Pozzi, F., & Polettini, A. (2005). Direct determination of the ethanol metabolites ethyl glucuronide and ethyl sulfate in urine by liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom*, *19*(10), 1321-1331. https://doi.org/10.1002/rcm.1932

Room, R., Babor, T., & Rehm, J. (2005). Alcohol and public health. *Lancet*, *365*(9458), 519-530. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)17870-2

Saracevic, A., Simundic, A. M., & Dukic, L. (2014). The stability of ethanol in unstoppered tubes. *Clin Biochem*, *47*(1-2), 92-95. https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2013.11.006

Satar, S., Güneysel, Ö., Türedi, S., Yürümez, Y., & Akıcı, A. (2020). *Klinik Toksikoloji Tanı ve Tedavi*. Çukurova Nobel Tıp Kitabevi.

Savini, F., Tartaglia, A., Coccia, L., Palestini, D., D'Ovidio, C., de Grazia, U., Merone, G. M., Bassotti, E., & Locatelli, M. (2020). Ethanol Determination in Post-Mortem Samples: Correlation between Blood and Vitreous Humor Concentration. *Molecules*, *25*(12). https://doi.org/10.3390/molecules25122724

Schloegl, H., Dresen, S., Spaczynski, K., Stoertzel, M., Wurst, F. M., & Weinmann, W. (2006). Stability of ethyl glucuronide in urine, post-mortem tissue and blood samples. *Int J Legal Med*, *120*(2), 83-88. https://doi.org/10.1007/s00414-005-0012-7

Schneider, H., & Glatt, H. (2004). Sulpho-conjugation of ethanol in humans in vivo and by individual sulphotransferase forms in vitro. *Biochem J*, *383*(Pt. 3), 543-549. https://doi.org/10.1042/BJ20040925

Shajani, N. K., Image, B. A., & E.B., C. (1989). The Stability of Ethanol in Stored Forensic Blood Samples. *Canadian Society of Forensic Science Journal*, *22*(4). https://doi.org/10.1080/00085030.1989.10757443

Shan, X., Tiscione, N. B., Alford, I., & Yeatman, D. T. (2011). A study of blood alcohol stability in forensic antemortem blood samples. *Forensic Sci Int*, *211*(1-3), 47-50. https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2011.04.012

Sharpe, P. C. (2001). Biochemical detection and monitoring of alcohol abuse and abstinence. *Ann Clin Biochem*, *38*(Pt 6), 652-664. https://doi.org/10.1258/0004563011901064

Sidqey, D., Liane, V. H., & Kristoffersen, L. (2021). Quantitative Determination of Ethyl Glucuronide and Ethyl Sulfate in Postmortem and Antemortem Whole Blood Using Phospholipid Removal 96-Well Plate and UHPLC-MS-MS. *J Anal Toxicol*, *45*(4), 378-388. https://doi.org/10.1093/jat/bkaa108

Sontate, K. V., Rahim Kamaluddin, M., Naina Mohamed, I., Mohamed, R. M. P., Shaikh, M. F., Kamal, H., & Kumar, J. (2021). Alcohol, Aggression, and Violence: From Public Health to Neuroscience. *Front Psychol*, *12*, 699726. https://doi.org/10.3389/fpsyg.2021.699726

Stephanson, N., Dahl, H., Helander, A., & Beck, O. (2002). Direct quantification of ethyl glucuronide in clinical urine samples by liquid chromatography-mass spectrometry. *Ther Drug Monit*, *24*(5), 645-651. https://doi.org/10.1097/00007691-200210000-00011

Susse, S., Selavka, C. M., Mieczkowski, T., & Pragst, F. (2010). Fatty acid ethyl ester concentrations in hair and self-reported alcohol consumption in 644 cases from different origin. *Forensic Sci Int*, *196*(1-3), 111-117. https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2009.12.029

Sutlovic, D., Versic-Bratincevic, M., & Definis-Gojanovic, M. (2014). Blood alcohol stability in postmortem blood samples. *Am J Forensic Med Pathol*, *35*(1), 55-58. https://doi.org/10.1097/PAF.0000000000000077

SWGTOX. (2013). *Scientific Working Group for Forensic Toxicology (SWGTOX) standard practices for method validation in forensic toxicology* (1945-2403 (Electronic) 0146-4760 (Linking)). (J Anal Toxicol, Issue. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23934984

Swift, R. (2003). Direct measurement of alcohol and its metabolites. *Addiction*, *98 Suppl 2*, 73-80. https://doi.org/10.1046/j.1359-6357.2003.00605.x

Thierauf, A., Serr, A., Halter, C. C., Al-Ahmad, A., Rana, S., & Weinmann, W. (2008). Influence of preservatives on the stability of ethyl glucuronide and ethyl sulphate in urine. *Forensic Sci Int*, *182*(1-3), 41-45. https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2008.09.011

Thompson, A., King, K., Morris, A. P., & Pirmohamed, M. (2021). Assessing the impact of alcohol consumption on the genetic contribution to mean corpuscular volume. *Hum Mol Genet*, *30*(21), 2040-2051. https://doi.org/10.1093/hmg/ddab147

Thompson, P. M., Hill-Kapturczak, N., Lopez-Cruzan, M., Alvarado, L. A., Dwivedi, A. K., & Javors, M. A. (2016). Phosphatidylethanol in Postmortem Brain and Serum Ethanol at Time of Death. *Alcohol Clin Exp Res*, *40*(12), 2557-2562. https://doi.org/10.1111/acer.13254

Thorburn Burnsa, D., & Walker, M. J. (2020). The Stability of Urine for the Forensic Analysis of Samples in Alleged Driving-Under-the-Influenceof-Alcohol Cases- A Review and Case Report. *Journal of the Association of Public Analysts*, *48*, 1-10.

Tıbbi Laboratuvar Yönetmeliği. (2013). Resmi Gazete Retrieved from https://www.mevzuat.gov.tr/mevzuat?MevzuatNo=18933&MevzuatTur=7&MevzuatTertip=5

Tıbbi Laboratuvarlarda Kan Numunelerinde Etanol Analizi İşlemleri Genelgesi (2017). Retrieved from https://shgmtetkikdb.saglik.gov.tr/Eklenti/11278/0/kan-numunelerinde-etanol-analizi-islemlerinin-usulpdf.pdf

Tiscione, N. B., Vacha, R. E., Alford, I., Yeatman, D. T., & Shan, X. (2015). Long-Term Blood Alcohol Stability in Forensic Antemortem Whole Blood Samples. *J Anal Toxicol*, *39*(6), 419-425. https://doi.org/10.1093/jat/bkv037

Torrente, M. P., Freeman, W. M., & Vrana, K. E. (2012). Protein biomarkers of alcohol abuse. *Expert Rev Proteomics*, *9*(4), 425-436. https://doi.org/10.1586/epr.12.38

Triolo, V., Spano, M., Buscemi, R., Gioe, S., Malta, G., Caplinskiene, M., Vaiano, F., Bertol, E., Zerbo, S., Albano, G. D., & Argo, A. (2022). EtG Quantification in Hair and Different Reference Cut-Offs in Relation to Various Pathologies: A Scoping Review. *Toxics*, *10*(11). https://doi.org/10.3390/toxics10110682

Trius-Soler, M., Pratico, G., Gurdeniz, G., Garcia-Aloy, M., Canali, R., Fausta, N., Brouwer-Brolsma, E. M., Andres-Lacueva, C., & Dragsted, L. O. (2023). Biomarkers of moderate alcohol intake and alcoholic beverages: a systematic literature review. *Genes Nutr*, *18*(1), 7. https://doi.org/10.1186/s12263-023-00726-1

Udesen, C. H., Hviid, S. S., Becker, U., & Tolstrup, J. S. (2023). Alcohol-related mortality in 15-24-year-olds in Denmark (2010-2019): a nationwide exploratory study of circumstances and socioeconomic predictors. *Lancet Reg Health Eur*, *29*, 100620. https://doi.org/10.1016/j.lanepe.2023.100620

Ulwelling, W., & Smith, K. (2018). The PEth Blood Test in the Security Environment: What it is; Why it is Important; and Interpretative Guidelines. *J Forensic Sci*, *63*(6), 1634-1640. https://doi.org/10.1111/1556-4029.13874

Uysal, C., Karapirli, M., & M.A., İ. (2014). Effects of Some of The Regional Turkish Fermented Foods and Medications on Respiratory Alcohol Levels. *Turkish Journal of Medical Sciences*, *44*(5), 720-727. https://doi.org/10.3906/sag-1308-24

Van Bocxlaer, J. F., Clauwaert, K. M., Lambert, W. E., Deforce, D. L., Van den Eeckhout, E. G., & De Leenheer, A. P. (2000). Liquid chromatography-mass spectrometry in forensic toxicology. *Mass Spectrom Rev*, *19*(4), 165-214. https://doi.org/10.1002/1098-2787(200007)19:4<165::AID-MAS1>3.0.CO;2-Y

Vance, C. S., Carter, C. R., Carter, R. J., Del Valle, M. M., & Pena, J. R. (2015). Comparison of Immediate and Delayed Blood Alcohol Concentration Testing. *J Anal Toxicol*, *39*(7), 538-544. https://doi.org/10.1093/jat/bkv061

Varghese, J., & Dakhode, S. (2022). Effects of Alcohol Consumption on Various Systems of the Human Body: A Systematic Review. *Cureus*, *14*(10), e30057. https://doi.org/10.7759/cureus.30057

Vonghia, L., Leggio, L., Ferrulli, A., Bertini, M., Gasbarrini, G., Addolorato, G., & Alcoholism Treatment Study, G. (2008). Acute alcohol intoxication. *Eur J Intern Med*, *19*(8), 561-567. https://doi.org/10.1016/j.ejim.2007.06.033

Vural, N. (1984). *Toksikoloji*. Ankara Üniversitesi Basımevi

Vural, N., & Saygı, Ş. (1981). Kan Alkolünün (Mikroyöntemle) GLK ile Tayini ve Yöntemin Trafikte Uygulanması *Ankara Ecz. Fak. Mec.*, *11*, 190-199.

Wachholz, P., Skowronek, R., & Pawlas, N. (2023). Assessing the applicability of cerebrospinal fluid collected from the spinal cord for the determination of ethyl alcohol in post-mortem toxicology. *Forensic Sci Med Pathol*, *19*(1), 44-49. https://doi.org/10.1007/s12024-022-00560-8

Waller, G. (2023). The Policy Context Of Alcohol And Crime. In Dorothy Newbury-Birch & J. Ferguson (Eds.), *Alcohol, Crime And Public Health* (1st ed., pp. 18). Routledge. https://doi.org/DOI: 10.4324/9781003169802

WHO. (2018). *Global Status Report on Alcohol and Health*. https://www.who.int/publications/i/item/9789241565639

Winek, T., Winek, C. L., & Wahba, W. W. (1996). The effect of storage at various temperatures on blood alcohol concentration. *Forensic Sci Int*, *78*(3), 179-185. https://doi.org/10.1016/0379-0738(95)01884-0

Wurst, F. M., Dresen, S., Allen, J. P., Wiesbeck, G., Graf, M., & Weinmann, W. (2006). Ethyl sulphate: a direct ethanol metabolite reflecting recent alcohol consumption. *Addiction*, *101*(2), 204-211. https://doi.org/10.1111/j.1360-0443.2005.01245.x

Wurst, F. M., Kempter, C., Seidl, S., & Alt, A. (1999). Ethyl glucuronide--a marker of alcohol consumption and a relapse marker with clinical and forensic implications. *Alcohol Alcohol*, *34*(1), 71-77. https://doi.org/10.1093/alcalc/34.1.71

Wurst, F. M., Thon, N., Aradottir, S., Hartmann, S., Wiesbeck, G. A., Lesch, O., Skala, K., Wolfersdorf, M., Weinmann, W., & Alling, C. (2010). Phosphatidylethanol: normalization during detoxification, gender aspects and correlation with other biomarkers and self-reports. *Addict Biol*, *15*(1), 88-95. https://doi.org/10.1111/j.1369-1600.2009.00185.x

Yeter, O. (2018). Biyolojik Materyaller ve Örnek Seçimi: Postmortem Biyolojik Materyaller. In S. Annette Akgür & N. Dağlıoğlu (Eds.), *Temel Adli Toksikoloji* (pp. 201-208). Akademisyen Kitabevi.

Zakhari, S. (2006). Overview: How is Alcohol Metabolized by the Body? *Alcohol Res Health*, *29*(4), 245-254. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17718403

EKLER

Ek-1. Etik Kurul Kararı

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ALT ETİK KURULU
KARAR ÖRNEĞİ

Karar Tarihi :24/09/2019

Toplantı Sayısı :16

Karar Sayısı :264

264- Üniversitemiz Sağlık Bilimleri Enstitüsü Adli Biyoloji Bölümü doktora öğrencilerinden **Emine Firdevs Yıldırım**'ın "Uzun Dönem Bekletilen Kan ve İdrar Örneklerinde Enatol, Etil Glukuronid ve Etil Sülfat Düzeylerinin Belirlenmesi" başlıklı tezi ile ilgili 24/05/2019 tarihli "İnsan Üzerinde Yapılan Klinik Dışı Araştırmalar Başvuru Formu" Etik Kurulumuzca incelenmiştir.

Yapılan görüşmeler ve incelemeler sonucunda, **Emine Firdevs Yıldırım**'ın "Uzun Dönem Bekletilen Kan ve İdrar Örneklerinde Enatol, Etil Glukuronid ve Etil Sülfat Düzeylerinin Belirlenmesi" başlıklı tezi ile ilgili, araştırma protokolüne uyulması ve etik onay tarihinden itibaren geçerli olması koşuluyla uygulanmasının etik açıdan uygun olduğuna oybirliği ile karar verildi.

ASLININ AYNIDIR
24/09/2019

Prof.Dr.Muharrem ÖZEN
Ankara Üniversitesi
Etik Kurulu Başkanı

Ek-2. Aydınlatılmış Onam Formu

Aydınlatılmış Onam Formu

Araştırmanın Adı: Uzun Dönem Bekletilen İdrar Örneklerinde Etanol, Etil Glukuronid ve Etil Sülfat Düzeylerinin Belirlenmesi

Sayın Gönüllü,

Ankara Üniversitesi Adli Bilimler Enstitüsü Adli Biyoloji Programında gerçekleştirilen ve yukarıda adı yazılı doktora tez çalışmasına katılmak üzere davet edilmiş bulunuyorsunuz. Bu araştırmada yer almayı kabul etmeden önce, araştırmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme çerçevesinde özgürce vermeniz gerekmektedir. Aşağıdaki bilgileri lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınız olursa sorunuz ve açık yanıtlar isteyiniz.

1. Çalışmanın amacı nedir?

Tüketilen alkol vücutta çeşitli kimyasal değişimlere uğramaktadır. Bu değişimler hem kan da hem de idrar da takip ve tespit edilebilmektedir. Etil glukuronid ve etil sülfat ülkemizde rutin olarak analiz edilmeyen alkol tüketim miktarının tespit edilebildiği iki parametredir. Yapılan çalışmalar alkol tüketimi sonrasında biyolojik örneklerin saklama koşullarına bağlı olarak uzun süre saklaması durumunda doğru sonuçlar verebileceğini göstermektedir. Alkolün dahil olduğu adli olaylarda yargı sürecinin farklı aşamalarında alkol tüketim miktarı tayin testlerinin yenilenmesi istenebilmektedir. Bu nedenle adli olayın gerçekleşmesi akabinde olaya karışan kişi/kişilerden testlerin ileride tekrar edilmesi durumu için ek olarak bir de şahit numune alınmakta ve saklanmaktadır. Ancak bugün rutin olarak alkol miktar tayini için kullanılan parametre en fazla 6 ay saklamaya imkan vermektedir. Bu çalışma ile idrar örneklerinin 6 ay'dan daha uzun süre saklanmasına bağlı olarak stabilitesi belirlenecektir.

2. Çalışmaya katılma koşulları nelerdir?

Çalışmaya katılımın ilk koşulu çalışma için gönüllü olmaktır. Bununla birlikte, gönüllünün akut veya kronik bir hastalığının olmaması ve en az 5 yıldır alkol kullanması gerekmektedir. Çalışma kapsamında gönüllülerden herhangi bir ücret alınmayacak ve gönüllülere herhangi bir ödeme yapılmayacaktır.

3. Çalışma kapsamında nasıl bir uygulama yapılacaktır?

Çalışma kapsamında gönüllülerden çalışma günü en az 0,5 g/kg düzeyinde alkol (900ml bira / 200ml rakı vb.) tüketmeleri istenecek ve alkol tüketiminden 8-10 saat sonra gönüllülerin idrar örnekleri toplanacaktır. Sonrasında örneklerin analizi gerçekleştirilecek olup gönüllülerde herhangi bir uygulama yapılmayacaktır.

4. Araştırmaya kaç gönüllü dahil edilecektir?

Bu tez çalışmasına 10 sağlıklı gönüllü dahil edilecektir.

5. Bir gönüllünün bu araştırmanın gereklerini yerine getirebilmek için harcayacağı süre ne kadardır?

Bu çalışma için bir gönüllünün harcayacağı süre en fazla 10 saattir.

6. Gönüllüler, araştırmaya katılmaları halinde hangi risklerle karşılaşabilirler?

Bu çalışmaya katılmayı kabul eden gönüllülerden sadece bir kereye mahsus olarak idrar örneği alınacak olup söz konusu örneklerin alınması durumunda karşılaşılabilecek herhangi bir risk bulunmamaktadır.

Ek-2. (devam) Aydınlatılmış Onam Formu

7. Gönüllüler, araştırmaya katılmayı kabul etmemeleri ya da araştırmadan ayrılmaları durumunda herhangi bir olumsuz sonuçla karşı karşıya kalırlar mı?

Çalışmaya katılım gönüllük esasına dayalıdır ve gönüllüler araştırmaya katılımı kabul etmeyebilir veya çalışmanın herhangi bir aşamasında ayrılmak isteyebilirler. Her iki durumda da gönüllülerin karşı karşıya kalacağı olumsuz bir süreç veya sonuç bulunmamaktadır. Çalışmanın bilimsel disipline ve ilkelere uygun olarak yürütülebilmesi için gönüllülerin çalışmadan ayrılma kararını bizzat araştırma sorumlusuna iletilmesi önem arz etmektedir.

Bu araştırmada yer almak tümüyle isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da başladıktan sonra ayrılmak isteyebilirsiniz. Bu araştırma sonuçları bilimsel amaçlarla kullanılacaktır. Araştırmadan ayrılmanız ya da araştırmacı tarafından araştırmadan çıkarılmanız halinde, size ait veriler kullanılmayacaktır. Ancak veriler bir kez anonimleştirildikten sonra araştırmadan çekilmeniz mümkün olmayacaktır. Sizden elde edilecek tüm bilgiler gizli tutulacak, araştırma yayınlandığında da varsa kimlik bilgilerinizin gizliliği korunacaktır.

"Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllülere verilmesi gereken bilgileri içeren metni okudum. Eksik kaldığını düşündüğüm konularda araştırmacılara sorularımı sordum ve yeterli yanıtlar aldım. Yazılı ve sözlü olarak tarafıma sunulan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anladım. Çalışmaya katılım konusunda karar verebilmem için tarafıma yeterince zaman tanındı.

Bu koşullar altında, araştırma kapsamında şahsıma ait elde edilen bilgilerin bilimsel amaçlarla kullanılmasını, gizlilik kurallarına uyulmak kaydıyla sunulmasını ve yayınlanmasını, hiçbir baskı ve zorlama altında kalmaksızın, kendi özgür irademle kabul ettiğimi beyan ederim."

İmza/Tarih	İmza/Tarih
Katılımcının Adı-Soyadı	Emine Firdevs YILDIRIM