TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BEKLETİLEN KAN ÖRNEKLERİNDE ZAMANA BAĞLI OLARAK ETANOL DÜZEYİNDEKİ DEĞİŞİMİN GÖZLENMESİ: PLAZMA VE SERUM ÖRNEKLERİNDE FARK VAR MIDIR?

Neira MUSTABASİC

DİSİPLİNLERARASI ADLİ BİLİMLER ANABİLİM DALI
ADLİ KİMYA VE ADLİ TOKSİKOLOJİ PROGRAMI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. ASLIHAN AVCI

ANKARA
2018

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BEKLETİLEN KAN ÖRNEKLERİNDE ZAMANA BAĞLI OLARAK ETANOL DÜZEYİNDEKİ DEĞİŞİMİN GÖZLENMESİ: PLAZMA VE SERUM ÖRNEKLERİNDE FARK VAR MIDIR?

Neira MUSTABASİC

DİSİPLİNLERARASI ADLİ BİLİMLER ANABİLİM DALI
ADLİ KİMYA VE ADLİ TOKSİKOLOJİ PROGRAMI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. ASLIHAN AVCI

ANKARA

2018

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne, Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum " Bekletilen Kan Örneklerinde Zamana Bağli Olarak Etanol Düzeyindeki Değişimin Gözlenmesi: Plazma Ve Serum Örneklerinde Fark Var Midir?" 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: Neira MUSTABASIC

Tarih: 20.06.2018.

İmza:

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Disiplinlerarası Adli Bilimler Anabilim Dalı
Adli Kimya ve Adli Toksikoloji Doktora Programında

Neira MUSTABASIC tarafından hazırlanan

"Bekletilen Kan Örneklerinde Zamana Bağlı Olarak Etanol Düzeyindeki Değişimin Gözlenmesi: Plazma ve Serum Örneklerinde Fark Var mıdır? " adlı tez çalışması

aşağıdaki jüri tarafından **DOKTORA TEZİ** olarak

OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

20.06.2018

Prof.Dr. H.Sinan SÜZEN
Ank.Ü. Eczacılık Fakültesi
Jüri Başkanı

Prof.Dr. Aslıhan AVCI
Ankara Ü. Tıp Fakültesi
Üye

Prof.Dr. Nurşen BAŞARAN
Hacettepe Ü. Eczacılık Fakültesi
Üye

Prof.Dr. Berrin İmge ERGÜDER
Ank.Ü. Tıp Fakültesi
Üye

Doç.Dr. Bülent ERĞUN
Anadolu.Ü. Eczacılık Fakültesi
Üye

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

Prof.Dr. Mehmet AKAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik beyan ii

Kabul ve onay iii

İçindekiler iv

Önsöz vii

Simgeler ve kısaltmalar viii

Şekiller x

Çizelgeler x

1. GİRİŞ 1

1.1. Alkolün Tanımı 4

1.2. Alkol Tarihçesi 8

1.3. Alkolün Elde Edilişi 11

1.3.1. Fermantasyon Yolu 11

1.3.2. Distilasyon Yolu 16

1.4. Alkollü İçecekler 18

1.5. Etil Alkolün Farmakokinetiği 21

1.6. Alkol İntoksikasyonu 27

1.6.1. Akut Etil Alkol Entoksikasyonu 29

1.6.2. Kronik Etil Alkol Entoksikasyonu (Alkolizm) 32

1.6.3. Kanserojenik Etkisi 36

1.6.4. Kronik Alkol Alımını Gösteren Belirteçler (Alkolizm Tespiti) 38

1.7. Alkol ile İlişkili Yasalar 43

1.8. Alkol Düzeyi Tespiti 43

1.8.1. Canlılarda Alkol Düzeyi Tespiti 45

1.8.1.1. Canlılarda Kan Alkol Düzeyleri 45

1.8.1.2. Göz İçi Sıvısı 47

1.8.1.3. Nefes Alkol Konsantrasyon 48

1.8.1.4. Alkolmetre Yöntemi 50

1.8.1.5. Tükürük 51

1.8.1.6. Beyin Omurilik Sıvısı 51

1.8.2. Postmortem Alkol Düzeyi Tespiti 51

1.8.2.1. Postmortem Kan örneklerinde alkol düzeyi tespiti 51

1.8.2.2. Beyin Omurilik Sıvısı 52

1.8.2.3. İdrar 53
1.8.2.4. Göz İçi Sıvısı 53
1.9. Kan Etanol Tayın Yöntemleri 54
1.9.1. Mikrodifüzyon Yöntemi 54
1.9.2. Enzimatik Yöntem 55
1.9.3. Gaz Kromatografi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) 56
1.9.4. Headspace Gaz Kromatografisi (HS-GC) 57
1.9.5. Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometresi (LC-MS) 57
1.9.6. Sıvı Kromatografi–Kütle/Kütle Spektrometresi (LC-MS/MS) 57
1.9.7. Alkol Analizinde Yanıltıcı Durumlar 58
1.10. Tezin Amacını 59
2. GEREÇ VE YÖNTEM 61
2.1. Çalışma Protokolü 61
2.2. Analitik Metot (Yöntem) 62
2.3. Kullanılan Araç ve Gereçler 62
2.4. Kan Örnekleri 63
2.5. İstatistik incelemeleri 64
3. BULGULAR 65
3.1. Plazma ve Serum Örneklerindeki Etanol Düzeylerinin Belirlenmesi 65
3.2. Olguların Yaşlara Göre Kan Alkol Düzeyleri 68
3.3. Bekletilen Serum Örneklerinde Zamana Bağlı Olarak Etanol Düzeyindeki Değişimin Gözlenmesi 69
3.3.1. Birinci Aşama 69
3.3.1.1. Olguların Cinsiyete Gore Dağılımı 72
3.3.1.2. Olguların Yaşlara Göre Kan Alkol Düzeyleri 73
3.3.2. İkinci Aşama 73
3.3.2.1. Olguların Cinsiyete Göre Dağılımı 72
3.3.2.2. Olguların Yaşlara Göre Kan Alkol Düzeyleri 73
4. TARTIŞMA 79
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 93
ÖZET 95
SUMMARY 96
KAYNAKLAR 97
EKLER 103

Ek-1. Etik Kurul Kararı 103
ÖZGEÇMİŞ 105

ÖNSÖZ

Doktora eğitimim ve tez aşamam süresince bilgi ve becerimin gelişmesinde katkılarından dolayı Prof. Dr. Aslıhan AVCI'ya, eğitimim ve tez aşamam süresince bilgilerinden faydalandığım Prof. Dr. Sinan SUZEN, Prof. Dr. Nurşen BAŞARAN ve Prof. Dr. Berrin İmge ERGÜDER, çalışmamın laboratuvar aşamasında yardımlarından dolayı Buket ARDIÇ ve çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm Adli Tokikoloji ve Adli Kimya Anabilim Dalı çalışanlarına,

Bugünlere gelmemde, hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, fedakârlıkları ve bana duydukları güven ile yaşamımın her döneminde yanımda olan, ne yapsam da haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim canım annem, babam ve kardeşim Nadira'ya,

Sonsuz teşekkürler...

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AcH	Asetaldehit
ADH	Alkol Dehidrogenaz
AER	Alcohol Elimination Rate (Alkolün eliminasyon oranı)
ALD	Alcoholic Liver Disease (Alkol Karaciğer Hastalığı)
ALDH	Aldehid Dehidrogenaz
ALT	Alanin Aminotransferaz
AST	Aspartat Aminotransferaz
ATP	Adenozin Trifosfat
BAC	Blood Alcohol Concentration (Kan Alkol Konsantrasyonu)
BLAC	The legal Blood Alcohol Concentration (Yasal Kan Alkol Konsantrasyonu)
BrAC	Breath Alcohol Concentration (Solunum Havasında Alkol Konsantrasyonu)
CAC	Ethanol Concentration in Blood Cells (Kan Hücresi Etanol Konsantrasyonu)
CDT	Carbohydrate Deficient Transferrin (Karbonhidrattan Yoksun Transferrin)
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute (Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü)
CYP450	Cytochromes P450 (Sitokrom P450 enzim)
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EC	Fuel Cell (Fuel Hücresi)
EDTA	Etilendiamin Tetraasetik Asit
EtG	Etil Glukuronid
EtS	Etil Sülfat
G3P	Gliseraldehit-3-fosfat
GC-MS	Gaz Kromatografi-Kütle Spektrometresi
GGT	Gama Glutamil Transferaz
HA	Hyalüronik asit
HS-GC	Headspace Gas Chromatography (Headspace Gaz Kromatografisi)
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografi)
IARC	International Agency for Research on Cancer (Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı)
IR	Infrared
IV	Intravenöz
Km	Michaelis Constant (Michaelis sabiti)
LC-MS	Liquid Chromatography–Mass Spectrometry (Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometresi)
LC-MS/MS	Liquid Chromatography Tandem-Mass Spectrometry (Sıvı Kromatografi–Kütle/Kütle Spektrometresi)

LSD	Lizerjik Asit Dietilamid
MCV	Mean Corpuscular Volume (Ortalama Korpüsküler Hacim)
MEOS	Mikrozomal Etanol Oksitleme Sistemi
MS	Milattan Sonra
MS / MS	Tandem Kütle Spektrometresi
MÖ	Milattan Önce
NAD	Nikotinamid Adenin Dinükleotit
NDMA	N-Nitrosodimetilamin
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
PC	Phosphatidylcholine (Fosfatidilkolin)
PEth	Phosphatidylethanol (Fosfotidiletanol)
PLD	Phospholipase D (Fosfolipaz D)
ROS	Reactive Oxygen Species (Reaktif Oksijen Türleri)
SAC	Serum Alcohol Concentration (Serum Alkol Konsantrasyonu)
SFST	Standardized Field Sobriety Test (Sarhoşluk Testi)
SGOT	Serum Glutamik-Oksalasetik Transaminaz
SGPT	Serum Glutamik-Pirüvik Transaminaz
SIJ	The Sialic Acid Index Of Plasma Apolipoprotein J (Apolipoprotein J Plazma Sialik Asit İndeksi)
TBW	Total Body Water (Toplam Vücut Suyu)
TMK	Türk Medeni Kanunu
TCK	Türk Ceza Kanunu
UV	Ultraviyole
VAC	Vitreous Alcohol Concentration (Göz Içi Sıvısı Alkol Konsantrasyon)
WHO	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)
YAEE	Yağ Asiti Etil Esterleri
-OH	Hidroksil
5-HT	Serotonin
5-HIAA	5-Hidroksiindolasetikasit
5-HTOL	5-Hidroksitriptofol
%CA	Percentage of Air Chamber in Container (Tüpdeki Hava Yüzdesi)

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Birincil alkollerin genel formülü 4

Şekil 1.2. İkincil alkollerin genel formülü 5

Şekil 1.3. Üçüncül alkollerin genel formülü 5

Şekil 1.4. Mono alkollerin bazı örnekleri 6

Şekil 1.5. Etanolün moleküler yapısı 8

Şekil 1.6. *S. Cerevisiae* ile etil alkol fermantasyonu 13

Şekil 1.7. Alkollü içeceklerin sınıflandırılması 18

Şekil 1.8. Yiyeceklerin alkol emilimine etkisi 21

Şekil 1.9. Vücuttaki Dolaşım Sistemi 22

Şekil 1.10. Alkol metabolizmasının oksidatif yolları 25

Şekil 1.11. Etanolün metabolizmasi 25

Şekil 1.12. Kan alkol konsantrasyonu etkileyen faktörler 27

Şekil 1.13. Kronik ağır içmenin karaciğerdeki etkileri 33

Şekil 1.14. Almanya'da biradaki NMDA belirlenen konsantrasyonları (µg/kg) 36

Şekil 1.15. On sekizinci yüzyıldan beri şarapta bulunan kurşun konsantrasyonları 37

Şekil 3.1. Serum örneklerindeki etil alkol konsantrasyonları 66

Şekil 3.2. Plazma örneklerindeki etil alkol konsantrasyonları 67

Şekil 3.3. Olguların yaşlara göre dağılımı 68

Şekil 3.4. İlk gelen serum örneklerinde etil alkol konsantrasyonları 70

Şekil 3.5. 48 saat bekletilen serum örneklerinide etil alkol konsantrasyonları 71

Şekil 3.6. Olguların cinsiyete göre dağılımı 72

Şekil 3.7. Olguların yaşlara göre dağılımı 72

Şekil 3.8. İlk gelen serum örneklerinde etil alkol konsantrasyonları 75

Şekil 3.9. 3 ay bekletilen serum etil alkol konsantrasyonları 76

Şekil 3.10. Olguların cinsiyete göre dağılımı 77

Şekil 3.11. Olguların yaşlara göre dağılımı 78

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Etanolün bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri 7

Çizelge 1.2. Dünyada İlk 10 bira üreticisi 14

Çizelge 1.3. Dünyada ilk 10 şarap ülke üreticisi 15

Çizelge 1.4. Dünyada İlk 10 spiritler üreticisi 17

Çizelge 1.5. Vücut sıvı ve dokularında etil alkolün dağılma oranlar 23

Çizelge 1.6. Kandaki alkol düzeyine (BAC) göre akut alkol zehirlenmesinde ana klinik semptomlar 30

Çizelge 3.1. Plazma ve serum örneklerindeki etanol düzeylerinin karşılaştırılması 65

Çizelge 3.2. Serum ve plazma sonuçlarının istatistik analizi 67

Çizelge 3.3. Olguların yaşlara göre serum alkol düzeyleri 68

Çizelge 3.4. Olguların yaşlara göre plazma alkol düzeyleri 69

Çizelge 3.5. 4 ° C'de 48 saat bekletilen serum örneklerinde zamana bağlı olarak etanol düzeyindeki değişimin gözlenmesi sonuçları 70

Çizelge 3.6. Bekletilen serum örneklerinde etanol düzeyindeki değişimin sonuçlarının istatistik analizi 71

Çizelge 3.7. Olguların yaşlara göre ilk gelen serum alkol düzeyleri 73

Çizelge 3.8. Olguların yaşlara göre 48 saatlık serum alkol düzeyleri 73

Çizelge 3.9. -80 ° C'de 3 ay bekletilen serum örneklerinde zamana bağlı olarak etanol düzeyindeki değişimin gözlenmesi sonuçları 74

Çizelge 3.10. Bekletilen serum örneklerinde etanol düzeyindeki değişimin sonuçlarının istatistik analizi 76

Çizelge 3.11. Olguların cinsiyete göre ilk gelen serum alkol düzeyleri 77

Çizelge 3.12. Olguların cinsiyete göre 3 aylık serum alkol düzeyleri 77

Çizelge 3.13. Olguların yaşlara göre ilk gelen serum alkol düzeyleri 78

Çizelge 3.14. Olguların yaşlara göre 3 aylık serum alkol düzeyleri 78

1. GİRİŞ

Alkol, Adli tıp bilimi içerisinde zamanla önemi artan bir maddedir. Alkollü içecekler, yaygın bir şekilde insan tarafından tüketilir. Gevşetici ve öfori etkisi olan psikoaktif madde olarak etanol içerir (Oscar-Berman ve Marinkovic, 2007).

Alkolün zararlı kullanımı toplumlarda hastalık, sosyal ve ekonomik sorunları oluşturmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün ana hedefi alkol kullanımının zararlı etkilerini önleyerek ve azaltarak halk sağlığını korumaktır. Alkol tüketimi yalnızca hastalıklara, yaralanmalara ve diğer sağlık sorunlarına neden olmaz aynı zamanda genetik bozukluklara da yol açabilir. Çevresel faktörlere ek olarak, alkol tüketimini etkileyen üç faktör bulunmaktadır: tüketilen alkol miktarı, tüketim sıklığı ve nadir durumlarda tüketilen alkölün kalitesi (WHO, 2010). En yüksek alkol tüketim seviyesi Avrupanın gelişmiş ülkelerinde ve Amerikada görülmektedir. 2012'de ölümlerin 3,3 milyonu veya tüm dünyadaki ölümlerin yaklaşık % 5,9'u alkol tüketimine bağlandı (WHO, 2014). Sürücüler için izin verilen maksimum BAC değerleri hakkındaki veriler şöyledir: 177 ülke için mevcut ve izin verilen azami değerler genel olarak % 0,05 ile % 0,07 arası (61 ülke) veya 0,08 ile % 0,15 arasındadır (46 ülke). 18 ülkede kan alkol sınırı yoktur ve 25 ülke yalnızca sıfır BAC değerlerine izin verildiği bildirilmiştir, yani bu ülkeler alkollü araç kullanmaya müsamaha göstermez (WHO, 2014). Trafik kazası sebepleri arasinda sürücülerin alkollü araç kullanımının önemli bir yer tuttuğu bir çok yayında söz konusudur (Kesen ve ark., 2004). Alkol kullanımında araç kullanımı ile ilişkili trafik kazaları ciddi bir sosyal problemdir (Kocak ve ark., 2015).

Cezai süreçte işlemler, özellikle de ölümcül olayları kapsayan süreçte, kan örneğinin alkol konsantrasyonu açısından yeniden analizi, numunenin toplanmasından ve başlangıçta test edilmesinden sonra yıllarca talep edilebilir. Yeniden analiz, genellikle farklı enstrümantasyonlar kullanılarak farklı bir laboratuarda gerçekleştirilir. Çoğu zaman, kan örneğini depolayan polis memurları, uzun süreli saklama için kan numunelerini soğutma kapasitesine sahip değildir ve bu nedenle, oda sıcaklığında saklarlar (Tiscione ve ark., 2015).

Dünyadaki tüm adli toksikoloji laboratuvarlarında en sık yapılan analizlerden biri kan alkol düzeyinin belirlenmesidir (Vance ve ark., 2015). Adli vakalarda ve toksikolojik amaçla yapılan analizlerde kandaki alkolün (etanol) tayini doğru ve kesin olmalıdır (Vural ve Saygı, 1981). Analiz yöntemi ve analist çok iyi olsa bile, bir numunenin toplanması ve depolanması uygun olmazsa, analizlerin yanlış yorumlamasına sebep olabilir. Alkol tayinlerinde uygun örnek seçildiği zaman şu sorular yöneltilmelidir. Antemortem veya postmortem alkol düzeyi belirlenmesi için en uygun numune hangisidir? Numuneler nasıl elde edilmelidir? Numuneler nereden alınmalıdır? Depolama için "zaman sınırları" örneği nedir ? (Kaye, 1980).

Etanol düzeylerini analiz etmek için, adli toksikoloji laboratuvarlarında en sık kullanılan örnekler tam kan, plazma veya serum numuneleridir (Kocak ve ark., 2015). Bir mahkemeye sunulan sonuçların ceza kanunu açısından anlamlı olması için, belirlenen serum alkol konsantrasyonu (SAC) veya kan hücresi alkol konsantrasyonu (CAC), tam kan alkol konsantrasyonuna (BAC) dönüştürülmelidir (Charlebois ve ark., 1996). Şu zamana kadar, biyolojik örneklerde (kan, idrar gibi) etanol tayininde kullanılan yöntemler kimyasal, gaz kromatografisi, enzimatik ve otomatik yöntemlerdir (Vural ve Saygı, 1981). Kandaki etanolün belirlenmesinde gaz kromatografisı rutin prosedürü ve etanol belirlenmesi sırasında diğer uçucu bileşenler de tespit edilmektedir (Machata, 1975). Laboratuvar numunelerinde kan alkol düzeyinin (BAC) stabilitesi, renalizlerin yapılması sırasında büyük önem taşımaktadır (Stojiljkovic ve ark., 2016). Son zamanlarda, yerel mahkemelerde kanın toplanması ve kandaki etanol konsantrasyonu analizinin yapılması arasında geçen zaman kavramı üzerindeki tartışmalar yoğunlaştı. Daha önce etanolün stabilitesini araştıran çalışmalar yayınlandığı halde bir kan örneği için depolama koşullarının standart bir prosedürü yoktur. Bu nedenle laboratuvara göre değişik koşullar altında antemortem kan numuneleri, analiz edilene kadar depolanmaktadır. Sonuçların güvenilmezliğinin sebebi çoğu zaman depolandıktan sonra etanol konsantrasyonunda bir artış yada azalma olmasıdır (Vance ve ark., 2015). Biyolojik örneklerde yasal olarak gerekli saklama süresi dahilinde, örnek daha uzun süre saklanırsa alkolün stabilitesini bilmek önemlidir (Sutlovic ve ark., 2014).

Etanol konsantrasyonları, numunelerin depolanması sırasında etanol kaybı veya endojen etanol oluşumunun bir sonucu olarak azalabilir veya artabilir (Kocak ve ark., 2015).

Etanol kayıpları büyük oranda buharlaşma, kimyasal oksidasyon ve mikrobiyal tüketimden kaynaklanırken, artışlar büyük oranda glukoz gibi substratların fermantasyon yoluyla etanola mikrobik dönüşümüne bağlıdır. Kandaki etanol düzeyindeki değişikliğin sebepleri etanol kaybı ise bunun sebebi oksidasyon ve buharlaşma veya mikroorganizmaların etkisi olabilir. Üretilen etanol miktarı mevcut mikroorganizmaların türüne, mevcut substratlara, depolama sıcaklığına ve süresi ve kullanılan koruyucu maddelere bağlıdır (Sutlovic ve ark., 2014). Adli açıdan, son kan alkol konsantrasyonunun güvenilir bir şekilde belirlenmesi için final analizine kadar geçirdiği her adım, kan örneğinin alınması, depolama ve nakliyenin dikkate alınması gerekmektedir (Anderson ve ark., 2004).

Alkol hem uçucu hem de okside olabilen bir madde olduğu için, analitik sonuçların tekrarlanabilirliği, kan ve idrar gibi biyolojik sıvılardan etkilenmektedir. Bir depolama döneminden sonra metodun hassaslığı ile difüzyon ve oksidasyondan kaynaklanan alkol kaybı en aza indirilebilmektedir. Numunenin depolanması sırasında mikroorganizmalar tarafından kontaminasyonunu ve fermantasyon ile alkol üretimini önlemek adına koruyucuların kullanılması önemlidir (Hayden ve ark., 1977). Bu nedenle, depolama esnasında kanda etanol stabilitesi önemli bir problemdir. Tibbi incelemeler, tedaviler ve adli vakaların raporlanma prosesleri yasal düzenlemelerde tanımlanmasına rağmen, sağlık hizmeti açısından, laboratuvar hizmetleri ve tıbbi-yasal sorumluluklar çerçevesi ülkemizde ve diğer biçok ülkede güncel yasal düzenlemelerde açık bir şekilde tanımlanmamıştır. Ayrıca, güncel standartlar ve kanunlar "reanaliz örnekleri"nin depolanmasına ilişkin açık bilgiler vermemektedir. Adli durumlara ait numunelerin, örnekleme, kabul, işleme ve depolama prosesleri standardize edilmemiştir, bunun sonucunda beklenmeyen ve şaşırtıcı sonuçlar hatalı yorumlara yol açabilir. Bu nedenle, her laboratuar, güvenilir işlemler için kendi tanımlarını oluşturmalıdır (Kocak ve ark., 2015).

1.1. Alkolün Tanımı

Alkol, hidrokarbonların hidrojenlerinden biri veya birkaçının yerine karbon atomuna doğrudan hidroksil (-OH) grubunun bağlanmış organik bileşiklerin genel ismidir ve bir çok sayıda alt tipi bulunmaktadır. Alkoller bir molekülde bulunan hidroksil grubu sayısına göre 3 kategori olarak sınıflandırılmaktadır:

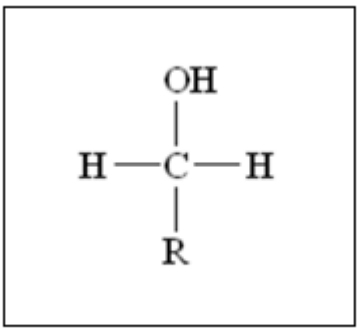
- Mono alkoller: Yapısında sadece bir hidroksil (-OH) grubu bulunmaktadır, örn. etanol, metanol, izopropanol vs.
- Dialkoller (Dioller): Aynı molekülde farklı karbonlara bağlanmış iki hidroksi grubu içeren bileşiklerdir ve genellikle glikoller adı verilmektedir, ör. etilen glikol, propilen glikol, vs.
- Trialkoller (Trioller): propan türevi gliserol veya gliseri gibi isimler alır (Pillay, 2013).

Genel formulü $C_nH_{2n+1}OH$ olan mono alkoller, alkollerin önemli bir sınıfıdır.

Mono alkoller , -OH grubunun karbon atomlarının zincirinde nasıl konumlandırıldığına bağlı olarak üç ayrı sınıfta toplanır (Wenthold, 2014):

a) Birincil (Primer) Alkol

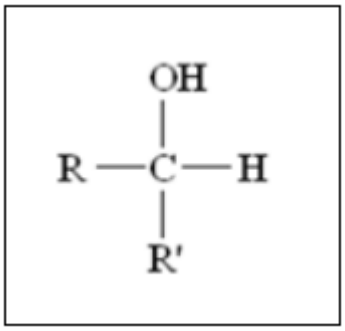
Primer alkollerde -OH grubunun bağlı olduğu karbon atomunda iki tane hidrojen atomu ya da bir tane alkil grubu bağlanılır.



Şekil 1.1. Birincil alkollerin genel formülü

b) İkincil (Sekonder) Alkol

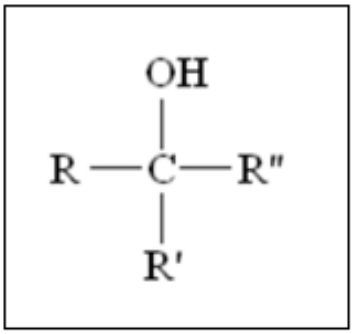
İkincil alkollerde -OH grubunun bağlı olduğu karbon atomuna bir tane hidrojen atomu ya da iki tane alkil grubu bağlanılır.



Şekil 1.2. İkincil alkollerin genel formülü

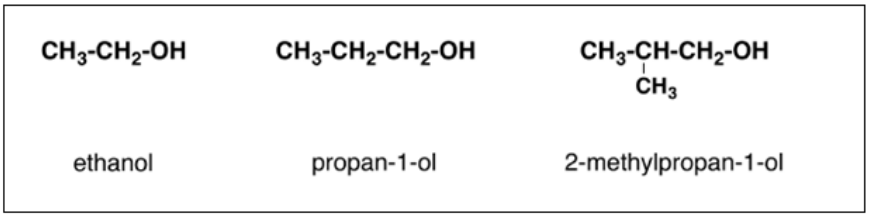
c) Üçüncül (Tersiyer) Alkol

Üçüncül alkollerde -OH grubunun bağlı olduğu karbon atomuna hidrojen atomu olmadığından üç tane alkil grubu bağlanılır.



Şekil 1.3. Üçüncül alkollerin genel formülü

Çeşitli türleri arasında bazı kimyasal farklılıklar vardır. Mono alkollerin bazı örnekleri şekil 1.4'te yer almaktadır (Wenthold, 2014).



Şekil 1.4. Mono alkollerin bazı örnekleri

Oral yolla uygulanan alkollerin narkotik etkisi araştırıldığında; sekonder ve tersiyar alkoller, primer alkollerden daha kuvvetli narkotik etki göstermektedir (Vural, 1996).

Alkoller kimyasal olarak çeşitli şekilde sınıflandırılabilmelerine karşın adli bilimlerde önemi ve kullanımı açısından dört grup altında literatürde yer alır:

- Etil Alkol (Etanol)
- Metil Alkol (Metanol)
- İzopropil alkol
- Etilen glikol (Church ve Witting, 1997)

Alkollü içeceklerde bulunan ve kısaca alkol denildiğinde kast edilen etil alkoldür. Kimyasal yapısı CH_3-CH_2OH olarak gösterilir (Yenigün, 2006). Etil alkol, renksiz, berrak, kendine özgün hafif bir kokuya sahip olan ve yanık lezzete sahip bir sıvıdır. Etanol suda yüksek, yağlarda düşük seviyede çözünürlüğe sahip olan bir maddedir (Pillay, 2013). Etanol anhidriti bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri Çizelge 1.1'de gösterilmiştir (IARC Monographs Volume 96, 2010).

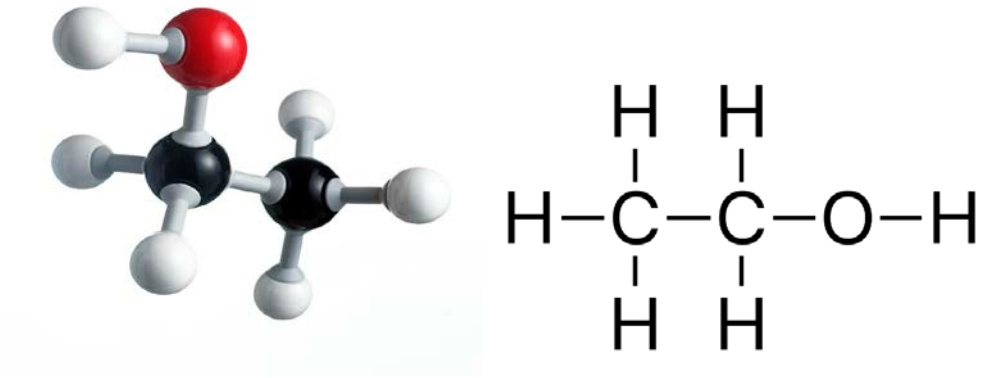
Çizelge 1.1. Etanolün bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri

Formül	C_2H_5OH
Moleküler kütlesi :	46,07
Erime noktası	-114,1 ° C
Kaynama noktası	78,5 ° C
Yoğunluk	d4 20 0,789
Kırılma indeksi	nD20 1,361

Etanol kolay alev alabilen, havada mavimsi sarı bir alevle yanan, ısı üreten, kalıntı bırakmayan, karbonik anhidrit ve su buharı oluşturan bir sıvıdır. Saf alkol hidrofilik (susever) bir moleküldür. Hava nemini çok kolay ve hızlı bir şekilde emer ve böylece yavaş yavaş saflığını kaybeder; bu nedenle sıkıca kapatılmış şişelerde saklanmalıdır. Alkol büyük bir eritme gücüne sahiptir. Inorganik tuzlar, fosfor, sülfür, iyot, reçineler, uçucu yağlar, katı yağlar, renklendiriciler vb. suda ve asitlerde çözünmeyen maddeler, alkolde çözünmektedir. Alkol albumin, jelatin, nişasta, sakız ve diğer maddeler çözeltilerin içinde çökmektedir (Wright, 1994).

Etanol birçok kimyasal maddenin sentezinde görev alır. Ayrıca etanol dezenfektan olarak, düşük donma noktasından dolayı antifiriz olarak, endüstride çözücü ve yakıt olarakta kullanılır (Vural, 1996).

Etanolün moleküler yapısı ve perspektif formülü aşağıdaki şekilde verilmiştir (Şekil 1.5.).



Şekil 1.5. Etanolün moleküler yapısı (Helmenstine, 2017)

Etil alkolün sinonimleri olarak etanol, etil hidrat, etil hidroksit, alkol, metil karbinol, buğday alkol, hububat alkol, şarap ruhu ya da kolonya kullanılmaktadır (Pubchem database; Aykaç, 1993).

Birçok kişi tarafından tüketilen alkollü içeceklerin içindeki alkol türü etil alkoldür. Bira, şarap, viski, cin, rakı,votka, konyak ve diğer yaygın alkollü içecekler için alkol, etanol veya etil alkol terimi kullanılacaktır.

1.2. Alkol Tarihçesi

Antik zamanlardan itibaren alkol tüketimi günümüze kadar tarihini korumuştur. Alkollü içecekler binlerce yıldır insanlar tarafından üretilmekte, tüketilmekte ve din bakımında önemli bir rol oynamaktadır. Antik içkilerle ilgili arkeologların kanıtları az sayıda bulunmaktadır, ancak bizi uzun zamandır gizli olan geçmişine götürmektedir. Bilim adamları, yeni teknolojiler ve kimyasal analizler ile insanların alkollü içeceklerin içildiği bayramlarda, kutlamalarda ve törenlerde alkol ile ilgili ayrıntılı bir hikaye yazabilmektedirler.

"Alkol" kelimesinin ilk defa ne zaman kullanıldığına dair kesin bir bilgi yoktur. Ayrıca, ilk alkolün nerede, ne zaman ve nasıl bulunduğu bilinmemektedir. İn sanların alkolü neden lezzetli bulduğunu anlamakta çok zordur. Yalnız ilk içkinin ne tür olduğu bilinmemekle beraber arkeologlar, geçtiğimiz günlerde dünyanın en eski alkol tüketiminin Çin'de olduğunu keşfettiler. Kırık çanak çömleklerin kimyasal analizi, Çinlilerin MÖ 7000 yıllarında alkol kullanmış olduklarını kanıtlamaktadır.

İncelenen gemiler pirinç, bal ve meyveden elde edilen aynı tür içeceklerin olduğuna işaret etmektedir. Orta Doğu'daki insanlar aynı zamanda şarap üretmeye başlamışlardır. Bununla birlikte, Gürcistan'da yapılan çalışmalar, şarap üretiminin MÖ 6000 yılına dayandığını göstermektedir. Fırat ve Dicle nehirlerinin hayat verdiği antik bir bölgesinde MÖ 7000 yıllarından beri günümüze alkol kulanımı devam etmektedir. Arkeologların kanılarına göre en az MÖ 3150 yıldan beri Mısır'da üzüm suyundan şarabın elde edilmesi, hatta bal, palmiye ve hurma şarapları Taş Devri'nin ortalarında, yani bu bölgedeki yüksek medeniyetlerin başlamasından çok önce bilinmektedir. Diğer ülkelerde alkol kulanımı ile ilgili bulunan kanıtlar ise sırasıyla şu tarihlere dayanıyor: Mısır (MÖ 3150), Babil (MÖ 3000), Meksika (MÖ 2000) ve Sudan (MÖ 1500). Mısır'da, alkol imalatında arpa kullanımı oldukça yaygın olarak bilinmektedir. Alkol sudan sonra insanların en sık tükettiği ikinci sıvı kaynağıydı. Üstelik, Mısır ve Sumeria'da alkol ilaç olarak bazı hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. Hristyanların kutsal kitabında alkol içme konusunda çok şey anlatılır, hatta bazı yerlerde alkolden olumlu sözlerle bahsedilmiştir. Kutsal kitapta şarabın depresyona maruz kalmış insanlara verilmesi gerektiğini önermektedir. Kitapta yazılan 31: 6-7 sözlerine göre şarabın etkisi insanlara sıkıntılarını unutmalarına yardımcı olur. Avrupa'da içki içme geleneği muhtemelen kahvaltı veya sempozyumlar sırasında şarap tüketilmesi Antik Yunan'da başlamıştır. Antik Yunan'da şarap içmeyen kişi bir barbar olarak kabul edilirdi. Ancak Aristoteles ve Platon dahil birçok ünlü filozof, toplumlarının çok fazla içmesini yargılamıştır. MÖ 1. yüzyıla gelindiğinde, eski Yunanlar ve Romalılar tarafından en makbul içki şarap olarak kabul edilirdi. Alışılmadık bir şişe şarap 1867 yılında Almanya'da bulundu. MS 350'de bir Roma asıllı yerel olarak üretilen bir şişe şarapla gömülmüştür. Speyer kenti yakınlarında keşfedildiğinde, arkeologlar şişenin içinde hala sıvı bulduklarında bilinen en eski likit şarap bulunmuştur. Birinci Dünya Savaşı sırasında bir kimyacı tarafından analiz edilmesine rağmen görünüşe göre şişe hiç açılmamıştır. Günümüzde şişeyi açıp açmama konusunda hala tartışılmaktadır. Mikrobiyolojik açıdan bakıldığında bu antik şişeyi açmanın tehlikeli olabilme ihtimali vardır. Şarap şişesi yüz yıldan uzun bir süredir Pfalz Tarih Müzesi'nde sergilenmektedir ve merak uyandırıcı bir eser olmasına rağmen şişe hiçbir zaman araştırma ekibi tarafından açılmamıştır (Gately, 2009; Blocker ve ark., 2003.)

Alkol tüketimi tarihin akışını da etkilemiştir. Alkol, antiseptik özelliği sebebiyle tıp alanında kullanıldığı gibi, kimi zaman dini bir ritüel sembol sayılıp dini törenlerde kullanılmıştır, kimi zaman da eğlencelerin ayrılmaz bir parçası olmuştur. Yapılan araştırmalar, insanların genellikle zevk almak için alkol tükettiğini göstermektedir. Alkol kullanımı, 14.yy.dan sonra hastalık olarak kabul edilmiştir. Tıbbi kavram olarak ise 19. yüzyıl ortalarında "alkolizm" şeklinde isimlendirilmiştir. Alkolizm sözcüğü ilk kez 1856 yılında İsveç'li doktor Magnus Huss tarafından, "Alcoholismus Chronicus" isimli makalede kronik alkolizm terimini kullanmıştır (Soysal ve Çakalır, 1999).

Alkolü içecekler binlerce yılldır insan tarafından üretilip tüketilmiştir. Etanol beslenme ve enerji sağlama; tıbbi, antiseptik ve analjezik faydalar sağlama; susuzluk giderme; rahatlama, konuşma ve sosyal uyum sağlama; yeme keyfinin arttırma; genel olarak yaşam kalitesini ve zevklerini arttırmaktadır. Toplumdaki alkollü içeceklerin işlevleri çoğu zaman büyük tartışmalara konu olmaktadır. Bunun örneği, son yüzyılda pek çok ülkede yurt çapında alkol yasağının kurulması ve daha sonra geri çekilmesidir. Günümüzde alkolün cazip bir iksir veya tehlikeli bir zehir olup olmadığı konusunda bir görüş çatışması vardir. Alkol ile ilgili güncel tartışmalar siyasi, kamu politikasi, dini, kültürel, hukuki, tıbbi alanlarda yer almaktadır (Hanson, 2013).

Alkol araştırmalarına göre, alkol kazaların ve kazayla yaralanmaların en önemli nedenidir. Vücuttaki alkolün varlığı nedeniyle kazalar ve kazalardan kaynaklanan yaralanmaların şiddetini arttırdığı için alkol tüketimi, yasal olarak düzenlenmelidir. Alkol, kaza riskini artıran psikomotor ve kognitif etkilere sahiptir (Glucksman, 1994).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) raporuna göre, 2020 yılına kadar, herhangi bir uygun yaptırım bulunmazsa, trafik kazası nedeniyle yaralanma ve ölüm oranı % 65 oranında artacaktır (Sinnathurai, 2013).

Adli toksikoloji alanında etanolün, en önemli maddelerden biri olarak uzun bir geçmişi vardır.

1.3. Alkolün Elde Edilişi

Etil alkolün elde edilişinde başlıca iki yol vardır. Bunlar fermantasyon yolu ve distilasyon yoludur.

1.3.1. Fermantasyon Yolu

Alkol fermantasyonu, fermantasyon reaksiyonlarından en iyi bilinen işlemdir. Meyve ve sebze suları, bal ve tahılların (arpa, buğday vb.) içinde bulunan oligosakkaritler ve polisakkaritlerin şekerlerle zengin substratların maya mantarları tarafından birçok önemli dönüşümü, stabilizasyon ve koruma işlemlerinin sonucunda elde edilir (Ciani ve ark., 2008).

Bakteri ve mayalar da dahil olmak üzere birçok mikroorganizma etanol karbonhidratlardan başlıca fermantasyon ürünü olarak üretilebilimektedir (Yang ve ark., 2007).

Mikroorganizmaların şekerlerin içinde bulunan glikoz ünitesinden etanol, karbon-dioksit ve diğer metabolik yan ürünlere dönüştürdüğü, kompleks bir biyokimyasal işlemdir. Şarap ve bira gibi alkollü içecekler bu yolla elde edilen içkilere örnek olarak gösterilebilmektedir. Fermantasyon kontrolü genel olarak hazır ürünün (alkolu içeçeklerin) kalitesini belirlemek için bir ön şart olarak kabul edilir (Buratti ve Bendetti, 2016).

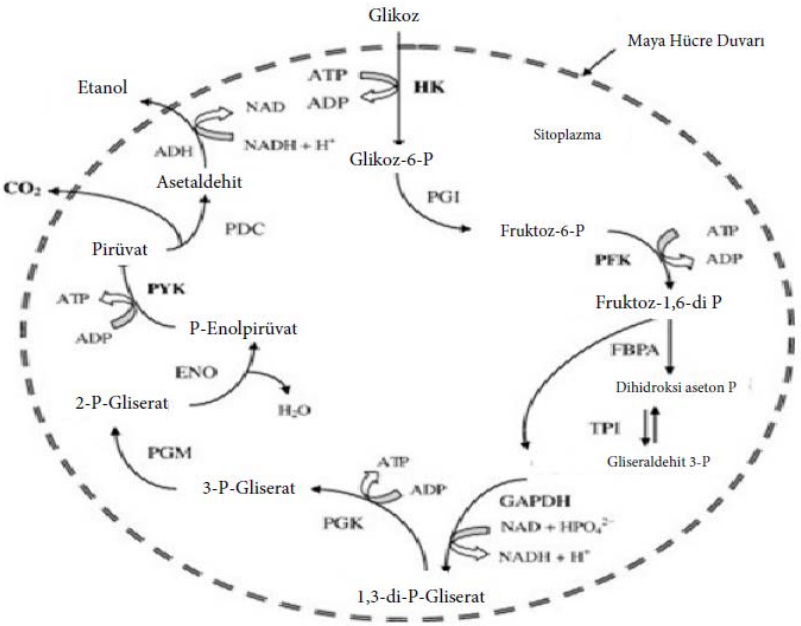
Mayalar, genellikle tek hücreli ökaryot yapılı mantarlardır. Tüm canlılar gibi, kompleks yapılarını korumak, büyümek ve çoğalmak için enerjiye ihtiyaç duyarlar. Maya hücreleri, bu enerjiyi, hücresel solunum yoluyla biyomolekülleri parçalayarak elde etmektedir. Hücresel solunum oksijenli ve oksijensiz solunum olarak ikiye ayrılır. Solunumun oksijensiz yapılan türlerinden biri de etil alkol fermantasyonudur. Oksijen varlığında maya ve glikozun oksijen ile tepkimeye girmesi sonucu su ve karbon dioksid gibi inorganik maddelere dönüşmektedir (Gunther ve Rusilas, 2012).

Fermantasyon yoluyla üretilen alkol miktarı ham maddelere göre önemli ölçüde değişir ve tamamen ham maddenin içindeki şeker miktarına bağlıdır. Fermente olabilen şeker içeren hammaddeler veya fermente olabilen şekerlere dönüştürülebilen

karbonhidratları içeren hammaddeler: Üzüm, kayısı, kiraz, şeftali, ahududu, çilek, incir, erik, muz ve birçok tropikal meyveler, enginar, patates, arpa, havuç, şalgam, pancar kökü, mısır, pirinç, patates ve diğer tahıllardır. Etanol fermantasyonundan önce hammaddenin içeriğindeki oligosakkarit veya polisakkarit yapısındaki karbonhidratlar enzimatik hidroliz veya asit hidrolizi gibi yöntemlerle mikroorganizmanın kullanılabileceği monosakkaritlere dönüştürülmelidir. Nişasta, malt enfüzyonuyla karıştırıldığında maltoza dönüştürülür ve böylece maltoz maya ile fermente edilir (Wright, 1994).

Söz konusu fermantasyon aerobik ve anaerobik olmak üzere çok farklı mikroorganizmaların etkinliği altında gerçekleşir (Basmacıoğlu ve Ergül, 2002).

Bazı bakteri maya hücreleri ve bitkisel tohumlarının oksijenin olmadığı durumlarda fermantasyonla enerji üretebildiklerini göstermiştir. Fermantasyon süreci iki ana fazdan oluşur: bir enerji üreten faz ve ikinci NAD^+ geri dönüşüm fazdır. Etanol fermantasyonunda ilk önce fermantasyon reaksiyonları glikolizde bir glikoz molekülün ($C_6H_{12}O_6$) parçalanıp, böylece ortamda pirüvat ($C_3H_4O_3$) iki adenozin 3'-trifosfat (ATP) molekülü üretilmesiyle başlar. Pirüvattan karbon-dioksid çıkması sonucu asetaldehit oluşur. Asetaldehit oluşması etil alkol fermantasyonuna özgüdür. Sonrasında asetaldehit $NADH^+$ H^+ın hidrojenlerini alarak etil alkole dönüşür. Böylece NAD da yükseltgenerek serbest kalmış olur ve glikoliz tarafından tekrar kullanılmaktadır. ATP'nın üretilmesi çok daha verimli olduğundan dolayı, mayanın aerobik solunum daha önemlidir (Gunther ve Rusilas, 2012). Şekil 1.6'da etil alkol fermantasyonu gösterilmiştir.



Şekil 1.6. *S. Cerevisiae* ile etil alkol fermantasyonu (Bai ve ark., 2008)

Fermantasyon ortamında alkol konsantrasyonu % 10-15'ye eriştiğinde, maya mantarlarının metabolizması bu alkol konsantrasyonundan etkilendiği için fermantasyon durur. Bunun sebebi etanol yüksek konsantrasyona ulaştığında maya hücreler üzerinde toksik etkisi gösterebilmektedir. Bu nedenle, bu yol ile alkol üretimi yapıldığında yüksek konsantrasyonda etanol elde edilemez (Alba-Lois, 2010).

Genellikle fermantasyon saf bir şekerle başlamaz, eğer mayanın yediği şekerin kaynağı arpa nişastası ise yapılan içecek bira ve viski olur. Mayanın yediği şekerin kaynağı üzüm suyu ise yapılan içki şarap olur. Pekmez ise içecek rum olur. Alkollü içecekleri birbirinden ayıran ikinci özellik mayanın kültürü ve fermantasyona etkili olabilecek koşullarıdır. Mayalar fermantasyon yoluyla etil alkol yanında az miktarda yan ürünleri üretmektedir. Bu nedenle fermente yoluyla elde edilen alkol içeceklerin lezzeti, rengi, aroması ve kalitesi çok çeşitlidir. Bira, şarap ve alkollü içeceklerin rengini, aromasını ve lezzetini etkiyelen mevcut diğer bileşenlere "konjenerler" denir. Bu yan ürünlerin çoğu nispeten zararsızdır ancak her zaman fermantasyon sırasında oluşan metanol oldukca zehirlidir (Stone ve Nixon, 2000).

Fermantasyon, birkaç farklı doğal ekosistemde, endüstriyel fabrikalar gibi insan yapımı ortamlarda da bulunabilmektedir. Bu ekosistemlerde, çeşitli fermente

edici mikroorganizmalar tarafından alkol fermantasyonu gerçekleşir (Ciani ve ark., 2008).

Günümüzde endüstriyel etanol fermantasyonu, düşük pH ve yüksek etanol tolerans nedeniyle maya *Saccharomyces cerevisiae* ile gerçekleştirilir, ancak *Zymomonas mobilis* bakteri, glikoz ve sükrozdan daha yüksek spesifik etanol verimliliğine sahiptir. Etanol fermantasyonu, biyoteknoloji endüstrisinde kullanılan en eski ve en önemli fermantasyon süreçlerinden biridir. Maya mikroorganizmalarının fermantasyon sonucu etil alkol salgılama özelliği fabrikalarda alkol üretimi için kullanılmaktadır (Yang ve ark., 2007).

Çizelge 1.2. Dünyada İlk 10 bira üreticisi (IARC Monographs Volume 96, 2010)

Sıra	**Ülke**	**Üretimi 1000 hektolitre (2002 tahmini)**
1	ABD	231 500
2	Çin	231 200
3	Almanya	109 000
4	Brezilya	85 000
5	Japonya	70 500
6	Rusya	70 000
7	Meksika	65 000
8	İnglitere	56 800
9	İspanya	28 000
10	Hollanda	25 300

Alkollü içeceklere özgü üretim ile ilgili, Çizelge 1.2'de 2002 yılında en büyük 10 bira üreticisi olan ülkeyi göstermektedir. Bunların içinde, Almanya, Meksika ve Hollanda özellikle önde gelen bira ihracatçılarıdır. Bunun aksine Brezilya, Çin, Japonya ve Rusya, üretilen biranın çoğunu iç pazarda tüketmektedir (IARC Monographs Volume 96, 2010).

En büyük şarap üreticileri Fransa, İspanya, İtalya, Avrupa ülkeleri ve Yeni Dünyanın Güney Afrika ülkeleridir. Bu ülkeler aynı zamanda da en büyük şarap ihraç eden ülkelerdir (Çizelge 1.3).

Çizelge 1.3. Dünyada ilk 10 şarap ülke üreticisi (IARC Monographs Volume 96, 2010).

Sıra	**Ülke**	**Üretimi 1000 hektolitre (2001)**
1	Fransa	53 389
2	Italya	50 093
3	İspanya	30 500
4	ABD	19 200
5	Arjantin	15 835
6	Çin	10 800
7	Avustralya	10 163
8	Almanya	8 891
9	Portekiz	7 789
10	Güney Afrika	6 471

Yakıt ve petrol türevinin aşırı tüketimi insan toplumu için büyük bir tehlikedir. Fermantasyon yoluyla üretilen etanol, modern endüstride önemli bir yenilenebilir ve sürdürülebilir yakıt kaynağı olarak kabul edilmiştir. 1960'lı yılların ortalarından beri kullanılan özellikle düşük kurşun içeren veya kurşunsuz yanı sıra etanol gibi oksijenli yakıtların kullanımı egzoz emisyonlarını azaltmaktadır (Hodgson, 2004). Benzinin insan sağlığına olumsuz etkilerini ve artan maliyetlerini azaltmak amacıyla etanol çevre dostu bir alternatif olarak kullanılmaktadır (Chaudhary ve Karita, 2017). Etanol benzin ile herhangi bir konsantrasyonda karıştırılabilir ve çoğu mevcut otomobil motorları petrol/benzin ile % 15'e oranda biyoetanol karışımı ile çalışabilmektedir. Aynı zamanda, gıda atıkları, özellikle meyve ve sebze atıkları etanol için önemli bir kaynaktır. Amerika'da her yıl yaklaşık 18,2 milyar sterlin değerinde meyve ve sebze atıkları olduğu tahmin edilmektedir. Bu nedenle etanol üretmek için gıda atığı kullanılması, önemli ekonomik ve çevresel faydalar sağlayacaktır. Fermantasyon

aracılığıyla üretilen etanol kullanmak için, fazla su içeriği distilasyon işlem ile çıkarılmalıdır (Yang ve ark., 2012).

ABD'de yılık yaklaşık 4,5 milyar galon etanol, mısırdan üretilir ve bio-yakıt olarak kullanılmaktadır. ABD'de yıllık biyoetanol üretimi, önümüzdeki birkaç yıl içinde 7,5 milyar galonun üzerine çıkacağı düşünülmektedir ve 2025 yılına kadar 30 milyar galona ulaşması beklenmektedir (Yang ve ark., 2007).

Etanol, aynı zamanda, selülozun enzimatik hidrolizi reaksiyonu ile elde edilebilir (Pillay, 2013).

1.3.2. Distilasyon Yolu

Yüksek konsantrasyonda alkol içeriğine sahip içecekleri elde edebilmek için, fermantasyon yoluyla üretilen üçten fazla karbon atomu olmayan doymuş alifatik alkoller ve yan maddeler içeren ham alkol karışımından etanolün ayrıştırılması gerekmektedir (Katzen ve Diebold, 1976).

Tüm alkollü içecekler, bir şeker çözeltisinin maya ile şekeri karbon dioksit ve etanole dönüştüren bir alkol fermantasyonu işlemidir. Daha önce de belirtildiği gibi, şekerlerin fermantasyonu sonucu oluşan alkol içinde çok çeşitli kimyasallar vardır ve en önemlisi etil alkoldür. Dolayısıyla minör bileşenler metil, propil, bütil ve amil alkoller, aldehitler, ketonlar, esterler ve küçük bir grup organik maddelere rastlanabilmektedir. Bu bileşenler, belirli bir içeceğin lezzetini, kokusunu ve rengini belirlenmekedir. Baş ağrısı ve benzeri yan etkilerden de sorumludur. Fermantasyon ile üretilen zararlı yan maddeleri ortadan kaldırmak için distilasyon işlemleri yapılmaktadır. Daha sonra tekrar distilasyon (damıtma) işlemi ile alkol konsantre edilerek yoğunlaştırılarak saf alkol elde edilebilmektedir (Stone ve Nixon, 2000).

Distilasyon, uçucu aroma bileşenlerin oluşumunu ve konsantrasyonunu etkilemektedir. Özellikle sert alkol içeren içeceklerin üretiminde düşük kaynama noktasına sahip olan maddelerin çıkarılması distilatın lezzetini arttırmaktadır (IARC Monographs Volume 96, 2010).

Alkol içerdiği sudan tamamen ayrılması için, damıtılarak sudan ayrılır (Wright, 1994). Distilasyon, bir saf olmayan sıvının kaynama noktasına kadar ısıtılmasıdır ve ardından buharların soğuk bir yüzey üzerinde yoğunlaştırılıp toplanmasıdır. Bu sıvı bitene kadar, sıcaklık derecesi hep aynı seviyede tutulur. Boylece distilasyon sonucunda ilk çikan ürünün, kaynama noktası alkolden daha düşük olan üründür. Bu sıvı bittikten sonra sıcaklık yükselmeye başlar. Bu sıcaklık yükselmesi, ikinci sıvının kaynama noktasına ulaşıncaya kadar devam eder ve bu sıvı da tamamen buharlaşıncaya kadar sıcaklık sabit kalır. Bu fraksyona orta ürün denir ve daha çok etil alkolün oluşturduğu aşamadır. Son buharlaşan ürün ise kaynama noktası alkolden daha yüksek olan ürünlerdir. Böylece maddelerin kaynama noktalarının farklı oluşundan faydalanarak ayrılma işlemi yapılır ve karışımlar saflaştırılmış olur (Stone ve Nixon, 2000). Gerekli saflaştırma ile üretilen alkol çeşitli şekillerde etkilenebilmektedir. Böylece, tekrarlanan damıtma ile alkol ve su karışımlarından tamamen ayırılabilir ve neredeyse saf bir halde elde edilebilir (Wright, 1994).

Spiritlerin üretimi ile ilgili Çizelge 1.4'de görüldüğü gibi Çin ve Hindistan en büyük üreticilerdir. Gelişmekte olan ülkelerin tümü (Japonya ve Rusya dahil) büyük spiritler üreticileridir, ancak önde gelen ihracatçılar değildir, hepsi spiritleri iç pazarda tüketmektedir (IARC Monographs Volume 96, 2010).

Çizelge 1.4. Dünyada İlk 10 spiritler üreticisi (IARC Monographs Volume 96, 2010).

Sıra	**Ülke**	**Üretimi 1000 hektolitre (2003)**
1	Çin	577 490
2	Hindistan	154 860
3	Rusya	138 500
4	Japonya	102 360
5	ABD	98 000
6	İnglitere	82 195
7	Taylanda	71 340
8	Brezilya	70 000
9	Almanya	39 100

10	Fransa	36 345

1.4. Alkollü İçecekler

Alkollü içecekler, dünya çapında insanlar tarafından tüketilen, gevşetici ve öforik etkileri veren bir psikoaktif madde etanol içerir (Oscar-Berman ve Marinkovic, 2007).

Alkollü içecekler fermantasyon veya distilasyon yoluyla olup olmadığına göre iki büyük gruba ayrılabilmektedir. Yani mayalama ile elde edilen, şarap veya bira, distilasyon ile elde edilen viski, rom, brendi, cin gibi alkol içeceklerdir. Genelde "spiritler" ve "sert likör" olarak bilinmektedir (Stone ve Nixon, 2000).



Şekil 1.7. Alkollü içeceklerin sınıflandırılması (Rakesh, 2017)

Alkol konsantrasyonu % 18'den yüksek olduğunda çoğu maya büyüyemez. Bu nedenle, mayalanmış içeceklerin (şarap ve bira gibi) alkol yüzdesi sınırlıdır. Bunun aksine distilayon ile % 96 hacim alkolden fazla üretilebilir (IARC Monographs Volume 96, 2010). Alkol, herhangi su izinden ve başka bileşimi ayrıldığında, "saf" olarak adlandırılır. Saf alkol elde etmek için, laboratuarda hassas bir operasyon dizisi uygulanması gerekmektedir ve endüstriyel yöntem ile gerçekleştirmek imkansızdır.

Ticari alkol saf alkol değildir yalnızca çeşitli oranlardaki alkol-su karışımıdır (Wright, 1994). % 0,55-% 76 oranında alkol içeren herhangi bir içecek alkollü içecek olarak kabul edilir. % 76'dan daha yüksek olanlar alkole sahip olan içecekler, anestetik ilaçlar olarak bilinmektedir (Rakesh, 2017).

Birada genellikle % 2,3'ten-% 10'una kadar çoğunlukla % 4-5 oranında etanol bulunur. Bazı ülkelerde düşük alkollü bira, yani % 2,3'ün altında etanol içeren bira, pazarın önemli bir payıdır. Şarabın etanol içeriği genellikle % 8 ile % 15 vol arasındadır, ancak hafif şaraplar ve hatta alkolsüz şaraplar da mevcuttur. Spiritlerin etanol içeriği yaklaşık % 40 vol, ancak bazı ülkelere özgün spiritlerinde daha etanol içeriği daha yüksek olabilir. Aperatifler yaklaşık % 20 oranında alkol içerir. Aromalı alkol (votka veya rom içeren) içecekler genellikle % 4-7 oranında alkol içermektedir. Farklı alkollü içeceklerin içerdiği alkol miktarını belirtmek üzere standart bir yaklaşım kullanılmaktadır. Tüketilen alkollü içecek miktarı için (örneğin 330 mL'lik bir bira şişesi veya 200 mL'lik bir kadeh şarap) etanol dönüştürme faktörü kullanarak içeceğin içerdiği toplam alkol oranı hesaplanır. Etanol dönüşüm faktörleri ülkeye göre farklılık gösterir, ancak genellikle yaklaşık % 4-5 bira için vol, şarap için yaklaşık % 12 vol ve damıtılmış alkollü içecekler için yaklaşık % 40 vol. Böylece bir bira şişesinin etanol içeriği (330 mL) x (0,04) = 13,2 mL olarak hesaplanır. Bazı ülkelerde, etanol dönüştürme faktörleri kullanılıp, içeceğin içerdiği toplam alkol oranı doğrudan gram olarak hesaplanır. Diğer ülkelerde, alkollü içeceğin içerdiği toplam alkol oranı "ons" olarak kaydedildi (IARC Monographs Volume 96, 2010).

Etanol ve su alkollü içeceklerin ana bileşenleri olsa da, bazı çok tatlı likörlerde, şeker içeriği etanolün kosantrasyonundan bile daha yüksektir. İnsan tüketimi için hazırlanan alkol içeceklerinde olan etanol, yalnızca alkolik fermantasyon ile elde edilir. Etilen'den hidrasyon reaksiyonla gıda amaçlı üretilen sentetik etanol kullanımı dünyanın birçok yerinde yasaklanmıştır (IARC Monographs Volume 96, 2010).

Bira gibi ezme ve fermantasyon ile elde edilen alkollü içecekler esasen uçucu maddelerdir, örneğin su, uçucu yağlar, alifatik karbonil bileşikleri, alkoller, monokarboksilik asitler ve bunların esterleri, azot ve az miktarda asetik asit ve uçucu olmayan selüloz gibi maddeler, dekstrin, dönüştürülmemiş şeker ve nişasta, mineral maddeler, laktik asit vb. maddeler içermektedir (Wright, 1994).

Aroma bileşiklerin araştırılmasında ileri yöntemlerin kullanılması, içeceklerin lezzetini oluşan bileşikleri büyük sayıda göstermektedir. Yöntemler arasında gaz kromatografisi, sıvı kromatografisi, infrared spektroskopi, nükleer manyetik rezonans (NMR) spektroskopi ve özellikle de gaz kromatografisi ile kombine edilen kütle spektrometresi en önemli yöntem arasında görülmektedir. Bileşiklerin, içeceğin aroma üzerindeki etkisini açıklarken dikkate alınması gereken birkaç faktör vardır. Bazi araştırmalara göre, lezzet ve aroma verilen bileşikleri mayanın fermantasyonu sırasında oluşmaktadır. Başka çalışmalarda, alkol içeceklerin aroması fermantasyondan önce meyvelerde belirli prekürsörlerin varlığına bağlıdır, örneğin, şarapların aroma bileşimi, ayrıca distile alkollü içeceklerde bulunan lezzet bileşikleri, içeceğin daha güzel lezzet vermesi amacıyla alkol içeceklerine doğrudan katılabilmektedir. Alkollü içeceklerde bulunan karbonil bileşikleri en fazla aroma verici fraksiyon olarak bulunmaktadır. Fermantasyon sırasında şaraplarda ve damıtılmış içeceklerde ortaya çıkan asetaldehit ve diğer kısa zincirli alifatik aldehidler oluşmaktadır. Fermantasyon sırasında çoğu maya tarafından oluşturulduğundan, aromadan sorumlu bileşikler şarap, brendi ve hatta viski için ortaktır. Bileşiklerin miktarlarında büyük farklılıklar, koku ve lezetteki farklılıkların bir nedeni olabileceği düşünülmektedir. Yani alkollü içeceklerde bulunan aroma verici bileşiklerin doğası ve miktarı fermantasyonda kullanılan hammaddeden daha çok fermantasyon oluşturan mayaya bağlıdır (Nykänen, 1986).

Dünya alkol pazarında, Avrupa en büyük alkollü içecek pazarı olarak % 59'luk bir paya sahiptir. Avrupa'yı ABD (% 23,7) ve Asya Pasifik (% 17,2) bölgesi takip etmektedir. Alkolün en yüksek tüketimi Rusya ve yakın çevresidir. Bununla birlikte, Avrupa'nın diğer bölgelerinde de genel alkol tüketimi yüksektir. Avrupa'dan sonra Amerika en yüksek alkol tüketicisidir. Bazı ülkeler hariç alkollü içecek tüketimi dünyanın diğer bölgelerinde daha düşüktür. Tüm dünyada 2002 yılında, yetişkin erkeklerin % 55,2'si ve yetişkin kadınların % 34,4'ü alkollü içecekler tüketmektedir; Bu 1,9 milyardan fazla yetişkini oluşturmaktadir. Kayıt dışı tüketimin oranı dünyanın az gelişmiş bölgelerinde daha yüksektir ve bu nedenle en fakir bölge olan Afrika, Asya ve Güney Amerika'da alkol tüketimi yüksektir (IARC Monographs Volume 96, 2010).

'Palcohol' isimli toz alkol, 2015 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde, Alkol ve Tütün Vergi ve Ticaret Bürosu tarafından onaylandı. Bu ürünlerin ağırlığının %50'sı alkoldür ve hacimce % 10 alkol olarak tanımlanmıştır (Cowan ve Su, 2015).

1.5. Etil Alkolün Farmakokinetiği

İnsan vücudundaki etanol metabolizması, emilim, dağılım ve eliminasyon ile adlandırılmış üç farklı aşamadan oluşmaktadır (Ghadirinejad ve ark., 2016). Etanolün absorpsiyonu, dağılımı ve eliminasyon oranındaki değişkenlik, klinik ve adli tıpta önemli yer almaktadır (Norberg ve ark., 2003).

Emilim, alkolun ince bağırsaktan kan damarlarına geçmesidir. Küçük ve suda çözünen moleküllü etanol, sindirim sisteminin iç yüzeyini çevreleyen bağırsak epitel hücrelerinden kolayca emilir (Harding, 2003).

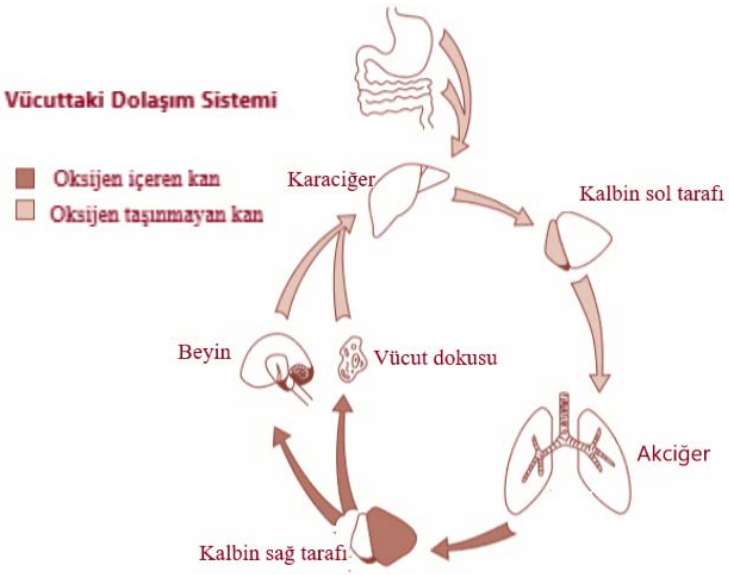
Etanolün absorbsyonu, öncelikle gastrointestinal sistem yolla duodenumda, ince bağırsakta (% 80) ve midede (% 20) gerçekleşir. Alkollü içkinin tipi emilim hızını etkileyebilmektedir. Seyreltilmiş alkollü içecekler daha yavaş absorbe edilir. Emilimi etkileyen en önemli faktör, mide boşluğudur. En hızlı emilim, aç karnına % 20'lik bir alkol çözeltisi alındığında gerçekleşir. Şekil 1.8.'de yiyeceklerin alkol emilimine etkisini gösterilmiştir (Harding, 2003).



Şekil 1.8. Yiyeceklerin alkol emilimine etkisi (Harding, 2003)

Toz halindeki alkolün emiliminin sıvı biçiminden nasıl farklı olabileceğine dair bir veri yoktur, muhtemelen emilim şekli benzerdir (Cowan ve Su, 2015).

Emilen alkol daha sonra kana geçer. Dolaşım sistemine girdikten sonra, kan tarafından taşınır ve tüm organlara ulaşır. Vücuttaki dolaşım sistemi Şekil 1.9'da gösterilmiştir (Harding, 2003).



Şekil 1.9. Vücuttaki Dolaşım Sistemi (Harding, 2003)

Adli tıp açısından en büyük önemi, alkol tüketiminden en yüksek konsantrasyonuna ulaşması için gereken zaman süresidir (Harding, 2003). Mide boşluğunda en yüksek kan etanol seviyelerine, yemekten 30-90 dakika sonra ulaşılır (Cowan ve Su, 2015).

Kan, vücudun organlarından ve dokularından geçerken, alkol su içeren tüm membranlardan geçmektedir. Alkol yoğunluğunun çok olduğu yerden alkol yoğunluğunun az olduğu yere doğru yayılır ve buna basit difüzyon denir. Alkol, suda tamamen çözünebildiğinden, tüm vücuttaki alkol düzeyi, toplam vücut suyu içeriği ile doğru orantılıdır. Su içeriği, kişiden kişiye değişir. Çizelge 1.5'de ortalama dağılım oranlarının, tam kan alkol konsantrasyonundaki ile farklılıkları göstermektedir (Harding, 2003).

Çizelge 1.5 Vücut sıvı ve dokularında etil alkolün dağılma oranlar (Harding, 2003).

Vücut sıvı veya doku	**Dağılım Oranları**
Tam Kan	1,00
Plazma / Serum	1,14
Kanın pıhtılaşması	0,77
İdrar	1,35
Beyin	1,17
Tükürük	1,12
Karaciğer	0,91
Tüm Vücut: Erkekler	0,68
Tüm Vücut: Kadınlar	0,55
Yağ dokusu	0,019

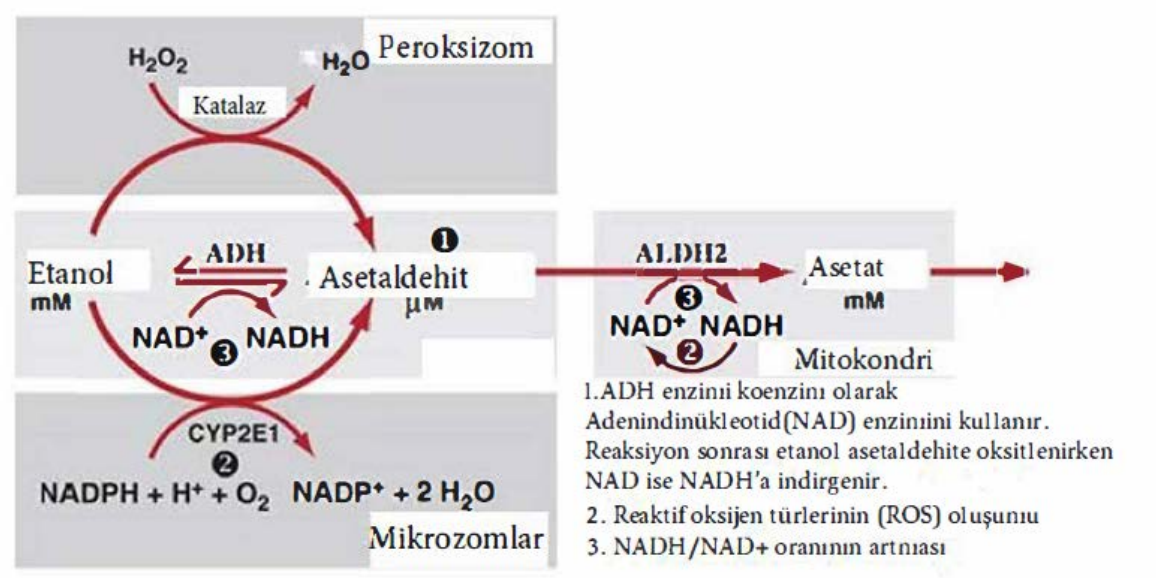
Etanol metabolizmasının çoğunluğu hepatik olmasına rağmen, diğer dokular da katkıda bulunmaktadır. Alkol dehidrogenaz enzimi karaciğer dışında mide mukozasında da bulunmaktadır. Enzimin, kadınlarda azalmış miktarlarda olduğu saptanmıştır. Ayrıca kadınlarda daha az "ilk geçiş metabolizması", daha küçük bir dağılım hacmi ile birleştiğinde, kadınların alkol zehirlenmesinin akut komplikasyonlarına karşı gelişmiş savunmasızlığını açıklanabilir (Cowan ve Su, 2015). Genel olarak, erkekler yaklaşık % 70 ve kadınlar yaklaşık % 60 vücut su oranına sahiptir (Watson ve ark., 1981). Kadınlarda alkolik karaciğer hastalığı erkeklerden daha kolay gelişir. Kadınlarda vücuttaki su içeriği daha düşük olduğundan etanolün dağılabileceği su hacmi daha azdır. Bu sebepten eşit doz alkol verilen kadın ve erkeklerde kadınların kan alkol konsantrasyonu erkeklerde n daha yüksek olur. Oral yoluyla alınan etanolün kan konsantrasyonlarındaki cinsiyete bağlı farklılıklar için alternatif bir açıklama, midenin etanolün oksidasyon kapasitesindeki farklılıklar olabilir (Frezza ve ark., 1990).

Oral yoluyla alınan % 95-98 etanolün hacmi karaciğerde enzimatik oksidasyon ile metabolize edilir ve geri kalanlar nefes (% 0,7), idrar (% 0,3) ve ter (% 0,1) ile atılır (Norberg ve ark., 2003; Ghadirinejad ve ark., 2016 ve Holford, 1987).

Kan konsantrasyonlarından tahmin edilen dağılım hacmi yaklaşık 37 L/70 kg'dır (Holford, 1987).

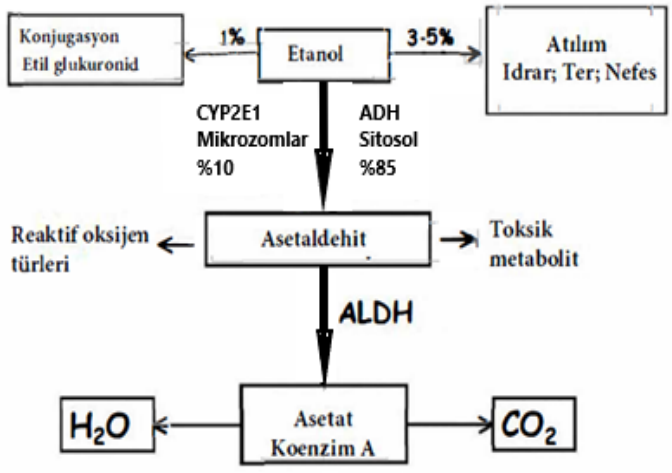
Alkolün metabolik atılımı, sıfır sıra kinetik (sabit atılım oranı) veya birinci derece kinetik (doza bağlı atılım oranı) kullanılarak modellenmiştir (Ghadirinejad ve ark., 2016). Etanol, hem gastrik mukoz hem de ince bağırsaklardan yüksek hızla emilir ve 20-60 dakika yuttuktan sonra en yüksek kan etanol seviyelerine ulaşmaktadır (Ekka ve Aggarwal, 2015). Etanolün büyük kısmı (% 95), sıfır sıra kinetiklerin ardından karaciğerde oksidatif olarak metabolize edilmektedir (Zheng, 2011).

Enzimler alkol dehidrogenaz (ADH), sitokrom P4502E1 (CYP2E1) ve katalazın hepsi alkolün oksidatif metabolizmasına katkıda bulunur (Zakhari, 2006). ADH enzimi sayesinde asetaldehite; asetaldehidin de aldehid dehidrogenaz enzimi aracılığıyla asetata dönüşmesinden ibaret olup, esas alkol metabolizasyon yolu burasıdır (Holford, 1987). Bu reaksiyon, nikotinamid adenin dinükleotid (NAD^+) elektron taşıyıcısını içerir. Katalaz, peroksizom hücrelerde bulunan enzim, peroksit (H_2O_2) gerektirir. CYP2E1, hücrenin mikrozomlarında bulunur ve yüksek etanol konsantrasyonlarında etanolün asetaldehide metabolize edilmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Asetaldehit esas olarak mitokondriyadaki aldehit dehidrojenaz 2 (ALDH2) ile birlikte asetat, NADH, reaktif oksijen türleri (ROS) oluşturmak üzere metabolize edilir (Zakhari, 2006). Asetaldehit, asetil CoA'ya dönüştürülen asetata dönüştürülür ve sonuçta karbon dioksit ve su olarak vucuttan atılır (Ekka ve Aggarwal, 2015). Alkol metabolizmasının oksidatif yolları Şekil. 1.10'da gösterilmiştir.



Şekil 1.10. Alkol metabolizmasının oksidatif yolları (Jones, 2003)

Alkol eliminasyon oranı bireyler arasında üç kata kadar değişiklik gösterir ve kronik alkol tüketimi, beslenme, yaş, sigara kulanımı ve içme saati gibi faktörlerden etkilenmektedir (Zakhari, 2006).



Şekil 1.11. Etanolün metabolizmasi (Jones, 2003)

Mide ADH alkol metabolizmasının % 10'undan sorumludur. Oral yoluyla alınan etanolün % 90'ı üç karaciğer enzim farklı yüzdeler ile metabolize edilir: Karaciğer ADH (% 90), mikrozomal etanol oksitleme sistemi (MEOS; % 8-10) ve katalaz (% 0–2) enzimdir (Vonghia ve ark., 2008).

Oksidasyonda hız sınırlayıcı aşama, düşük bir Michaelis-Menten sabiti (Km) 0,05-0,1 g / L olan sitosolik ADH ile etanolün asetaldehit haline dönüştürülmesidir. Dahası, bu enzim, farmakokinetikte ırksal ve etnik varyasyonları arasında polimorfizm gösterir. Diğer bir etanol-metabolize edici enzim olan sitokrom CYP2E1, daha yüksek bir Km'ye (0,5-0,8 g / L) sahiptir ve ayrıca indüklenebilirdir, böylece ağır içenlerde etanolün temizlenmesi artar (Norberg ve ark., 2003).

ADH enzimi çok erken doyar ve bu sayede sabit bir eliminasyon sürecine kolayca uyan düşük bir Km'ye (Michaelis sabiti) sahiptir. Bununla birlikte, sitokrom enzimlerinin çok daha yüksek bir Km'ye sahip olması nedeniyle alkol konsantrasyonunun Km'nın altında kalmasını sağlamaktadır. Bu enzim ile eliminasyon süreci, yüksek kan alkol konsantrasyonlarında etkili bir şekilde kan alkol temizlemesi için mekanizma olan ilk düzen kinetiklerini ortaya çıkarmaktadır. Etanol eliminasyon aşamasında mevcut modeller sıfır sıra kinetik veya birinci derece kinetikleri kullanırken, en uygun modelleme, sıfır sıra kinetik ve bunu takiben, vücutta yüksek etanol konsantrasyonu durumlarında rol oynayan birinci derece kinetiktir (Ghadirinejad ve ark., 2016).

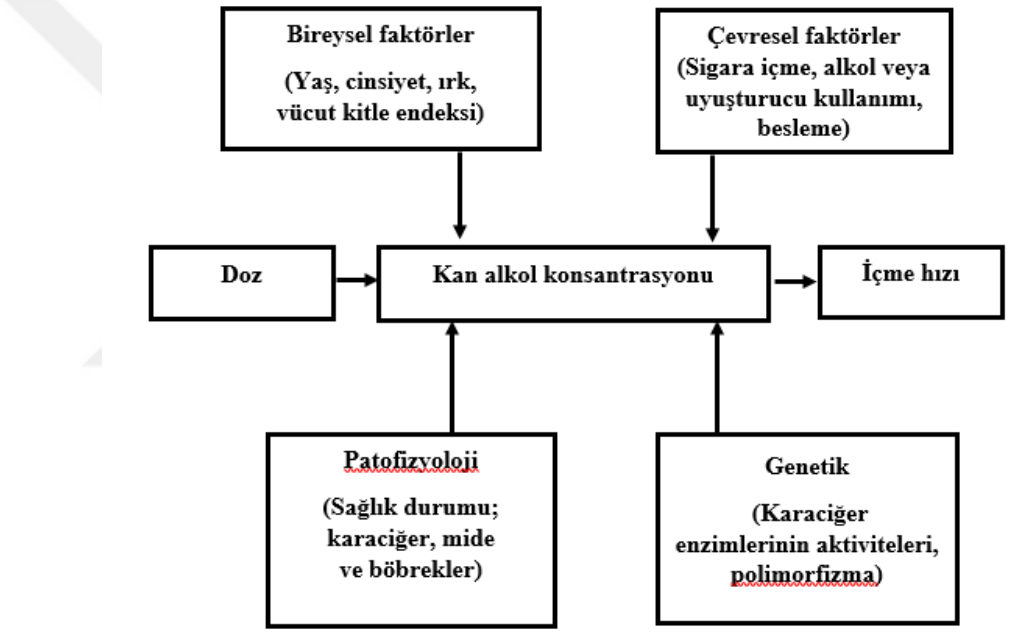
Bağırsaklardan etanol emilimin hızı, günün içme zamanına, içme düzenine, içilen miktara, içeceğin etanol konsantrasyonuna ve özellikle, midenin boş veya dolu olmasına bağlıdır. Absorpsiyon aşamasında, mide, portal ven ve periferik venöz dolaşım arasında bir konsantrasyon gradyanı vardır. İlk geçiş metabolizması ve biyoyararlarığı doz, zaman ve akışa bağlı kinetikler nedeniyle değerlendirmek zordur (Norberg ve ark., 2003).

Hepatik kan akışına ve etanol emilim oranına bağlı olan ilk geçişli etanol ekstraksiyonunun oranı 0,2 olarak tahmin edilmektedir (Holford, 1987).

Etanol, kan tarafından vücudun tüm bölgelerine taşınır. Dengeleme oranı, kan akışının doku kütlesi oranı ile belirlenir. Arter ve venöz konsantrasyonlar, içtikten sonra zamanın bir fonksiyonu olarak farklılık gösterir. Etanol lipidlerde düşük çözünürlüğe sahiptir ve plazma proteinlerine bağlanmaz, bu nedenle dağılım hacmi vücuttaki su miktarı ile yakından ilişkilidir, bu nedenle cinsiyet ve yaşa bağlı farklılıklara yol açabilir (Norberg ve ark., 2003).

Alkolün vücuttan eliminasyon oranı (AER), nefes veya kan alkol konsantrasyonu (BrAC veya BAC) ve pik konsantrasyonuna ulaşma zamanı oral alkol uygulamasından sonra genetik ve çevresel faktörlere eşit olarak etkilenmektedir (Li ve ark., 2000).

AER, yaklaşık 0,1 g etanol / kg vücut ağırlığı / saat ortalaması ile sabittir. Bu nedenle, vücut ağırlığı 75 kg olan bir kişi için bir şişe şarapta yaklaşık 80 g etanol bulunduğundan dolayı vücuttan atabilmesi yaklaşık 10 saat sürmektedir (Zheng, 2011).



Şekil 1.12. Kan alkol konsantrasyonu etkileyen faktörler (Jones, 2003)

Kokain kullananların yarısının alkol tükettikleri tahmin edilmektedir ve vucutta etanol kokainin kardiotoksik olan kokkaetilene hepatik dönüşümünü desteklemektedir (Karch, 2006).

1.6. Alkol İntoksikasyonu

BAC ile insan davranışlarındaki bozulma arasında köklü bir ilişki olduğu için, alkolün insan davranışları ve yönelim üzerindeki etkisi yüz yılı aşkın süreyle binlerce

araştırma yapılmıştır (Wigmore, 2014). 50 sene önce, alkol zararsız madde olarak kabul edilmekteydi. Geçen yüzyılın ortalarında, Harrison'ın Metin Kitabında alkolün muhtemelen şeker seviyesinde zehirli olduğunu ve alkol karaciğer hastalığı (ALD) malnütrisyonunun bir sebebi olduğunu belirtmiştir. Bir çok araştırma şüphesiz bir şekilde bu dogmayı sorgulanıp karaciğer ve diğer çeşitli organlarda alkol toksisitesi göstermiştir. Alkolün metabolik ve toksik etkilerinin anlaşılması 1000'den fazla bilimsel makaleye katkıda bulunmuştur (Seitz ve ark., 2005).

Sahte alkollerin yani, yasadışı olarak üretilmiş alkollerin tüketilmesinin, sadece zehirlenme veya karaciğer hastalığının değil, farklı ölüm nedenleri üzerinde etkili olduğu ve önemli bir halk sağlığı problemi olduğu görülmüştür (Lachenmeier ve ark., 2007).

Yaygın kullanımı nedeniyle toksik etki gösteren en sık alkol türü etanoldur. Etanol intoksikasyonları genellikle alkollü içki tüketimine bağlıdır (Gürdal, 2014; Ekka ve Aggarwal, 2015).

Etanol, hücre zarlarını hızlı bir şekilde oluşturan suda çözünen bir alkoldür (Cowan ve Su, 2015). Etanol zehirlenmelerinin altında yatan mekanizma bir çok çalışmada söz konusu olmuştur. Ancak buna rağmen bügüne kadar iyi anlaşılamayan bir konudur. Birçok selektif farmakolojik ajandan farkli olarak, etanol birden fazla etki yerine sahiptir. Etanol, metabolizması sırasında serbest radikal türlerin oluşumuna yol açabilmektedir. Bu aktivitenin etanolün genel toksisitesine ne kadar yakın olduğu bilinmemektedir. Ancak etanol metabolizması, etanolün akut ve kroniğe maruz kalmalarında serbest radikal oluşumuna yol açtığı gibi, asetaldehit katabolizmasının da serbest radikaller üretebilme potansiyeli vardır (Bondy, 1992).

Amerikalı yetişkinlerin üçte ikisi, etanol içeren içecekler tüketir ve orta derecede etanol alımı, miyokard enfarktüsü ve diğer kalp hastalıkları riskini azaltıyor gibi görünmektedir. Bunun aksine, Amerika Birleşik Devletleri yetişkinlerin % 10'una kadar alkol suistimallı ve dünya çapında akut etanol zehirlenmesi, trafik kazaları, aile içi şiddet, cinayet ve intihar gibi çeşitli komplikasyonlarla ilişkilidir. Alkol zehirlenmesinden kaynaklanan ölüm önemli bir sorun olmaya devam etmektedir. Akut

etanol zehirlenmesinin her yıl ABD'de 600 000'den fazla acil servis ziyaretinden sorumlu olduğu tahmin edilmektedir (Cowan ve Su, 2015).

Etanol, hayvan dokularında temasa geldiğinde, dokulardaki suyu çeker ve bu şekilde canlılarda orta derece toksik etki gösterebilmektedir. Dehidrasyon için yükselen konsantrasyonlarda kullanılmalıdır (Çakalağaoğlu, 2005).

1.6.1. Akut Etil Alkol Entoksikasyonu

Akut alkol zehirlenmesi genellikle çok miktarda alkolün alınmasını takiben klinik olarak zararlı bir durumdur (Vonghia ve ark., 2008). Akut alkol intoksikasyonu, sıklıkla görüldüğü nedeniyle önemli bir halk sağlığı sorunudur (Hoover, 1960). Genel olarak, alkol zehirlenmesinin etkileri iki fazlı, çünkü ilk gevşeme ve coşkunluk gibi belirtileri olarak ortaya çıkar, daha yüksek dozlarda halsizlik, tükenme, depresyon veya kusma ve bilinç kaybına yol açar (Oscar-Berman ve Marinkovic, 2007).

Klinik semptomlar heterojendir ve farklı organ ve metabolik etkileri içerir. Nörolojik, davranışsal, kardiyak, gastrointestinal, pulmoner gibi değişik düzensizlikler ortaya çıkar. Akut alkol intoksikasyonu sadece yetişkinlerde değil, aynı zamanda ergenlerde de görülmüş bir durumdur, hatta daha genç yaşlarda daha sık görülmektedir. Pediatrik popülasyonda, gargara, tıraş sonrası, saç tonik, ilaç ve çözücüler gibi alkol içeren ev ürünlerinin yutulması sonucu olabilir. Akut alkol zehirlenmesi için Tanısal ve İstatistiksel Ruhsal Bozuklukların El Kitabı üç önemli kriteri belirtmiştir:

(a) son alkol alımı;

(b) alkol alımından kısa süre sonra klinik olarak önemli bir uyumsuzluk veya sırasında gelişen davranışsal veya psikolojik değişiklikler; uygunsuz cinsel veya agresif davranış, kararsız ruh hali, yargı bozukluğu ve sosyal veya mesleksel problemler;

(c) Alkol kullanımından kısa süre sonrasında gelişen aşağıdaki işaretlerden biri veya daha fazlası:

(i) konuşma bozukluğu;

(ii) koordinasyon eksikliği;

(iii) denge sorunu;

(iv) nistagmus;

(v) hafıza kaybı ve algılama geçliği;

(vi) koma;

(vii) genel bir tıbbi duruma bağlı olmayan ve başka bir akıl hastalığından kaynaklı olmayan belirtiler (Vonghia ve ark., 2008).

Çizelge 1.6. Kandaki alkol düzeyine (BAC) göre akut alkol zehirlenmesinde ana klinik semptomlar (Vonghia ve ark., 2008).

Belirtiler	**Kan alkol konsantrasyonu (BAC)**
Normal sosyal işlevselliğin disinhibisyonu	BAC<50 mg/dl (10.9 mmol/l)
Aşırı konuşma	
Gevşeme	
Algılama geçliği	BAC > 100 mg/dl (21.7 mmol/l)
Ataksi	
Hiper-refleksi	
Kararsızlık	
Koordinasyonunun Bozulması	
Bilinç değişikliği; Emosyonel Davranış bozuklukları, nistagmus	
Reaksiyon zamanı yavaşlar	
Konuşma bozukluğu	
Hafıza kaybı	BAC > 200 mg/dl (43.4 mmol/l)
Çift görme (diplopi)	
Motor Konuşma Bozuklukları (Dizartri)	

Hipotermi	
Mide bulantısı	
Kusma	
Solunum depresyonu	BAC > 400 mg/dl (86.8 mmol/l)
Koma	
Ölüm	

Zehirlenme ile ilişkili semptomların şiddeti ve karakteri hem kan alkol konsantrasyonuna hem içme modeline bağlıdır. Hipotansiyon ve taşikardi etanol kaynaklı periferik vazodilatasyon veya hacim kaybı olarak ortaya çıkabilir. Hipoglisemi dahil olmak üzere metabolik düzensizlikler aktik asidoz, hipokalemi, hipomagnezemi, hipokalsemi ve hipofosfatemi akut alkol zehirlenmesi de çoklu neden olabilir, tek bir içkiden sonra çocuklarda gelişmekte olan hipoglisemi risklerinin yetişkinlerden daha yüksek olmasıdır (Ekka ve Aggarwal, 2015).

Aşırı alkol zehirlenmesinde başta gelen ölüm nedeni solunum depresyonudur (Bonora ve ark., 1984).

Akut alkol entoksikasyonunda kişi yatırılmalı ve acil serviste, klinik olarak hasta stabil seyredene kadar takibe alınmalıdır. Akut alkol zehirlenmesi olan hastalarda, en önemlisi alkolle ilişkili bozukluklar tespit edebilmek ve hastanın tedavi kurulabilir spesifik bir tedavi birimine yönlendirilmelidir (Vonghia ve ark., 2008).

İlk tedavi, hava yollarına, solunum ve dolaşım sistemine odaklanmalıdır. Gastrik dekontaminasyon alkollerin zehirlenmesinde nadiren gereklidir. Akut etanol zehirlenmesi için tedavi öncelikle destekleyicidir. Hipoglisemi ve solunum depresyon iki önemli semptomdur. Hipoglisemi hızlı glikoz tayını ile saptanması gerekmektedir ve dekstroz infüzyon uygulanmalıdır. Koma ile başvuran hastalara, Wernicke ensefalopatisini önlemek veya tedavi etmek amcıyla en az 100 mg parenteral tiamin dekstroz ile birlikte verilmelidir. Hipotansiyon eğer varsa tedavisinde intravenöz (IV) kristalloidler ve vazopresürler kullanılır. Sarhoş hasta şiddetliyse kendisine veya diğerlerine zarar vermesini önlemek için benzodiazepinler gibi kimyasal sedasyon gerekebilir. Ancak, benzodiazepinler gibi ilaçlar alkol ile solunum depresyonunu

kötüleştirebilir. Metadoksin, akut alkol zehirlenmesinin tedavisinde yeni, etanol atılımını hızlandıran spesifik bir ilaçtır (Ekka ve Aggarwal, 2015).

1.6.2. Kronik Etil Alkol Entoksikasyonu (Alkolizm)

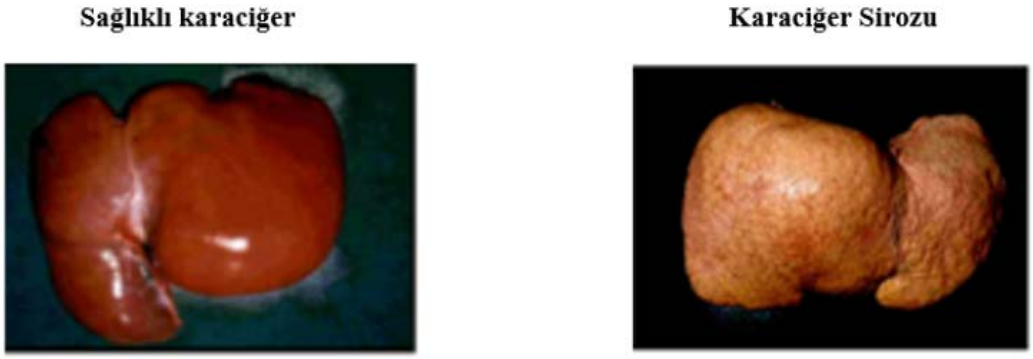
Aşırı alkol alımı, dünya çapında önemli bir halk sağlığı sorunudur ve çeşitliliğin bulaşıcı olmayan hastalıkların ana belirleyicilerinden biri olarak tanımlanmıştır. Dünya Sağlık Örgütü'ne (DSÖ) göre, hastalık ve yaralanmaların %4,5'ini ve tüm ölümlerin % 4'ü alkol alımına bağlıdır. Özellikle Doğu Avrupa'da 15-59 yaşlarındaki erkekler arasında alkol ölüm için önde gelen risk faktörüdür (Rusyn ve Bataller, 2013).

Alkol, toplumumuzda en çok tüketilen sarhoş edici maddedir. Arıştırmalara göre 12 yaşında ve daha büyük olanların % 82'si hayat boyunca en az bir kez alkol kullanmıştır (Harding, 2003). Alkol bağımlılığı alkolizm olarak da adlandırılır.

Etanol metabolizması sırasında oluşan asetaldehit ve oksidanlar oldukça reaktiftir ve DNA'ya, proteinlere ve lipitlere zarar verebilen moleküllerdir. Karaciğerdeki solunum ve lipit metabolizması değişiklikleri doku hipoksisine ve mitokondriyal fonksiyon bozukluğuna yol açabilir. İkincil etkiler arasında sinyal yollarının ve iyon kanallarının fonksiyon bozuklukları, katlanmamış protein cevabının, oksidatif stres ve adaptif bağışıklık aktivasyonunun büyük ölçüde asetaldehit protein tarafından tetiklenen yanıtıdır. Hücre ölümü, immün yanıtı, fibrogenesis aktivasyonu ve doku onarımının sonucudur. Ek olarak pro-inflamatuar mediatörler, nörotransmiterler ve diğer sinyalleme gibi moleküller alkolden etkilenir. Alkol alımı ile ilişkili patolojik değişiklikler etkilenen dokuya bağlı olarak, çoğu ya da tümü: yağ birikimi (steatoz), inflamasyon, nekroz ve fibrozisten kaynaklıdır. Organ fonksiyonu bozuklukları ve karsinogenez en ileri patolojik etkileri olarak ölüme sebep olabilir. Alkol, hücre membranlarından yüksek oranda geçer ve çoğu doku tarafından metabolize olur. Böylece, etanol vucuttaki çoğu organ üzerinde toksik etkiler göstermektedir. Alkol metabolizmasının ana yeri karaciğer olduğundan alkol tüketimine bağlı organ hasarı için en büyük hedeflerden biridir. Alkolik karaciğer hastalıkları arasında steatoz, steatohepatitin farklı alt tipleri, siroz ve hepatoselüler

karsinom bulunur. Bunlardan karaciğer sirozu dünyada alkol bağımlısı ölümlerinin nedeni olarak üçüncü sıradadır (Rusyn ve Bataller, 2013). Alkol yağ metabolizması değişikliklerinden kaynaklanan, alkolik hepatit ve siroz, eşzamanlı olarak alınan diğer maddeler ile etkilerini şiddetlendirebileceği iyi bilinmektedir (Karch, 2006).

Kronik alkolikler ve ciddi karaciğer hastalığı olanlar genelde artan metabolizma oranlarına sahiptir (Ekka ve Aggarwal, 2015).



Şekil 1.13. Kronik ağır içmenin karaciğerdeki etkileri (Jones, 2003)

Etanolün oksidasyonu sırasında karaciğerde oluşabilen metabolik bozukluklar (Jones, 2003):

- Eklenmiş hepatik redoks durumu -NADH / NAD+ oranının artmasıdır;
- Piruvat laktata dönüştürülür ve böbrek yoluyla atılım için üre ile rekabet eder; ürik asitin birikimi, gut ve laktasidoz ile sonuçlanır
- Glikozun hepatik sentezi bozulur ve hipoglisemi oluşur
- Azaltılmış sitrik asit döngüsü (fazla asetil CoA)
- Yağ asidi sentezinin arttırılması
- Muhtemelen Ketoasidoz
- Azaltılmış lipit oksidasyonu
- Hepatositlerde yağ birikmesi.

Aero-sindirim sistemindeki diğer anatomik bölgeler de kronik alkol tüketimi olumsuz yönde etkilenir ve yüksek morbidite ve mortalite ile malign olan tümörlere sebep olabilir. Alkol tüketimi ile ilişkili olan oral kavitenin farinks, larinks, özofagus

ve kolorektum tümörlerinden biridir. Pankreasta, pankreatite yol açan alkolün metabolitleri hücre hasarına ve sonrada fibrozisa neden olur. Etanolün toksik etkileri kardiyovasküler sistemi önemli oranda etkilemektedir. Hipertansiyon, iskemik kalp hastalığı, kalp krizi, kardiyomiyopati ve miyokardit, çeşitli aritmiler gibi, alkol kronik kullanımı ile ilişkilendirilmiştir. Alkol aşırı kullanımı ile nöropsikiyatrik bozukluklar arasındaki bağlantılar (örneğin majör depresyon) da bilinmektedir. Ek olarak, alkolün uzun süreli kullanımına bağlı olarak nörodavranışsal bozukluklar, şiddetten veya trafik kazalarından kaynaklanan ölümlere ve yaralanmalara sebep olabilir. Böbrekte IgA glomerülonefrit, akut nefropati ve böbrek greft yetmezliği aşırı alkol alımı ile ilişkili bulunmuştur. Alkol kullanılması erken doğum ve fetal alkol sendromu bozukluklarını oluşturmaktadır (Rusyn ve Bataller, 2013).

Neredeyse her organ sistemi aşırı alkol alımından olumsuz etkilenir, ancak sinir sistemini daha şidetli bir şekilde etkilenmektedir. Alkolün, nöral olmayan organlar ve yapılar üzerindeki etkilerinden farklı olarak, sinir sistemi üzerindeki klinik etkiler dikkate değer ölçüde farklıdır. Bu çeşitlilik, alkol veya alkolizmin klinik etkilerini çeşitli farklı mekanizmalarla, yani sinir hücreleri üzerindeki doğrudan toksik etkiyle, bir kronik zehirlenme döneminden sonra alkolün geri çekilmesiyle, bir beslenme yetersizliği durumunun ortaya çıkmasıyla indüklediğinden kaynaklanmaktadır. Merkezi veya periferik sinir sistemini veya her ikisini de etkileyebilir ve plasentadan geçerek fetal beynine zarar verebilir (Victor, 1992).

Alkollü içeceklerin, merkezi sinir sistemi üzerindeki depresan etkisi bilinmektedir. Böylece gerilimi ve endişeleri azaltır. Başlangıçta alkol sedasyon ve öfori oluşturur. Daha sonra, bir depresan olarak vucutta etkisi gösterir (Rakesh, 2017).

Beyin, alkolün toksisitesi için önemli bir hedeftir ve yoğun alkol tüketimi uzun zamandan beri beyin hasarı, duygusal ve davranışsal bozukluklarla ile ilişkilendirilmiştir (Oscar-Berman ve Marinković, 2007; US Department Of Health And Human Services, 2000). Bir çok çalışmada alkolün sinir hücreleri üzerinde doğrudan zarar etkileri ispatlanmiştir ve etanolun nörotoksik olduğu gösterilmiştir. Kronik alkol kulanımı ile kötü beslenme, karaciğer hastalığı ve kafa travması gibi durumlar beyin hasarı için ek risklerdir (US Department Of Health And Human Services, 2000).

Nörogörüntüleme, fizyolojik, nöropatolojik ve nöropsikolojik çalışmalardan elde edilen bulgular, frontal lobların, limbik sistemin ve serebellumun alkolün zararlı etkilerine karşı özellikle hassas olduğunu göstermektedir (Oscar-Berman ve Marinković, 2007).

Alkolün sinir sistemini etkilediği çeşitli mekanizmalar, aşağda gösterilen sınıflandırmaya temel teşkil eder (Victor, 1992).

Alkol bağımlılığına bağlı olarak ortaya çıkan nörolojik hastalıklarının sınıflandırılması:

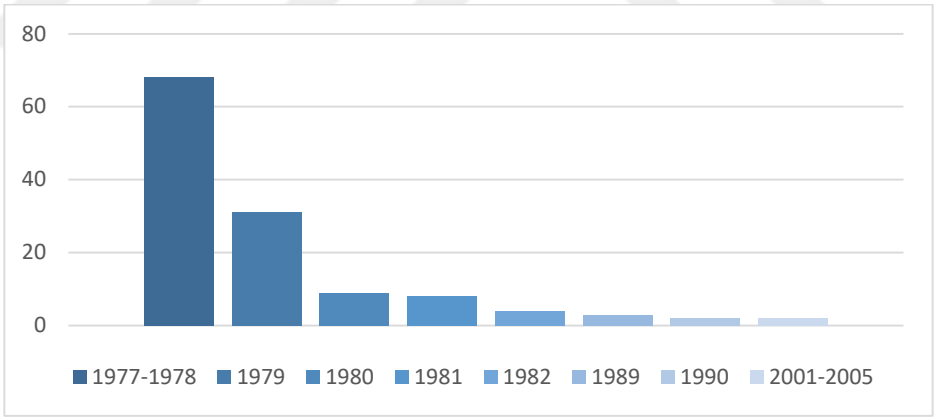
- Alkol zehirlenmesine bağlı koma, hafıza bozuklukları
- Yoksunluk sendromu (titreme, halüsinoz, nöbetler, deliryum tremens)
- Kronik alkolizm ile ilişkili Sinir Sisteminin Nutrisyonel Hastaliklari
- Wernicke hastalığı ve Korsakoff psikozu
- Serebellar dejenerasyon
- Periferik Nöropati (Beriberi Hastalığı)
- Optik Nöropatiler (ambliyopi)
- Pellegra hastalığı
- Alkoliklerde görülen belirsiz norolojik hastalıklar
- Santral pontin miyelinolizis
- Marchiafava-Bignami hastalığı
- Fetal alkol sendromu
- Alkole bağlı miyopati
- Alkoliklerde serebral atrofi
- Hafıza bozuklukları

- Hepatik Ensefalopati

1.6.3. Kanserojenik Etkisi

Alkollü içecekler ve alkollü içeceklerde bulunan etanol DSÖ Uluslararası Araştırma Ajansı tarafından "insanlara kanserojen" (Grup 1) olarak tanımlanmıştır (Rusyn ve Bataller, 2013).

Nitrozaminlerin kimyasal sınıfı, Grup A2 İnsan İçin Kanserojenik Potansiyeli Kuşkusu olan N-nitrosodimetilamin (NDMA) içerir. Alkollü içeceklerde NDMA, ilk olarak 68 µg / L'ye kadar olan konsantrasyonlara 1978'de Almanya biralarında bulundu. Sonraki araştırmalarda NDMA'nın malt kirletici olduğunu tespit edilmiştir. NDMA'nın Almanya'daki biradaki belirlenen konsantrasyonları Şekil 1.14'te özetlenmiştir. Veriler NDMA oluşumunu azaltmak için maltlamanın ve bira endüstrilerin çabalarını başarılı olduğunu yansıtmaktadır (IARC MonographsVolume 96, 2010).

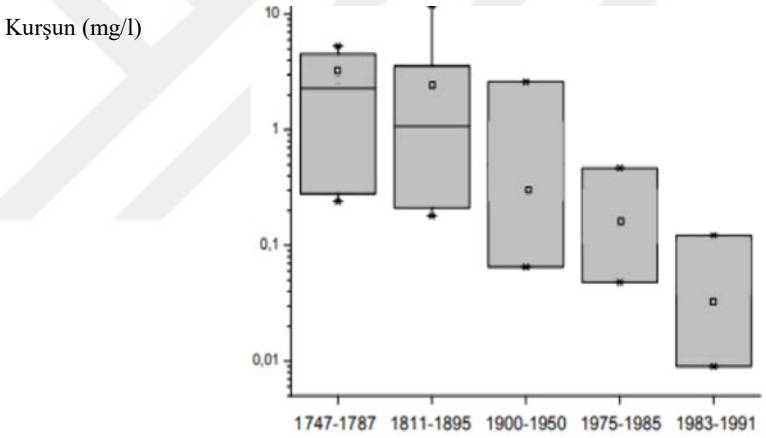


Şekil 1.14. Almanya'da biradaki NMDA belirlenen konsantrasyonları (µg/kg)

Mikotoksinler, *Aspergillus, Penicillium, Fusarium* ve *Alternaria* mantarlar tarafından üretilen fungal sekonder metabolitlerdir. Mikotoksinler, farklı derecelerde etanol fermantasyonu sırasında üretilir fakat damıtılmış alkolde bulunmamaktadır. Bu nedenle mikotoksinler üzerinde yapılan araştırmalarda damıtma olmadan üretilen alkollü içecekler (örneğin şarap, bira) ana odak noktasıdır. Şarap üzerine yapılan son araştırmalar, Grup 2B (muhtemelen insanlarda kansere neden olur) olarak

sınıflandırılmış olan okratoksin A'ya odaklanmıştır. Oraktotoksin A fermantasyon sürecinde oluşur ve şarapta en az 1 yıl stabildir. Aflatoksinler insanlara toksik ve kanserojen maddelerdir (Grup 1).

Bira üzerinde yapılan aflatoksin çalışmalarında bira örneklerinde aflatoksinler tespit edildi. Aflatoksin sıcak iklim ülkeleri biralarında bulunmaktadır. Genelde aflatoksin ile kontamine olmuş biralar okratoksin A da içermektedir. Metalik kurşun olası bir kanserojen olarak kabul edilimektedir (Grup 2B). Inorganik kurşun bileşikleri İnsanlar İçin Kanserojen Potansiyeli Taşıyan Endüstriyel Kanserojenler (Grup 2A) sınıfındadır. Yakın zamanda yapılan arıştırmalara göre, şarapta kurşun içeriği çok düşük bulunmuştur (<87 µg / L). Kırmızı ve beyaz şaraplar arasında kurşun içeriğin konsantrasyonlarda önemli bir fark yoktu.



Şekil 1.15. On sekizinci yüzyıldan beri şarapta bulunan kurşun konsantrasyonları (IARC Monographs Volume 96, 2010)

Kadmiyum ve kadmiyum bileşiklerinin insanlarda "kanserojen etkiler" gösterdikleri bilinmektedir (Grup 1). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, kırmızı şaraplarda beyaz şaraplardakilerden kadmiyumun ortalama içeriği daha yüksek bulunmuştur.

Yine de bu fark istatistiksel olarak anlamlı olmayan farklardır. Arsenik, karsinojenlerin Grup 1'inde yer almaktadır. Kırmızı şarapların ortalama arsenik içeriği pembe ve beyaz şaraplara göre daha düşüktür. Benzen insanlara karsinojen maddedir

(Grup 1). Belirli koşullar altında askorbik asit ve koruyucu sodyum benzoat varlığında, benzen oluşabilmektedir. Alkollü içecekler benzen ile kontamine olabilmektedir (IARC Monographs Volume 96, 2010). Kronik alkol tüketimi üst solunum yolu kanseri ve hepatoselüler kanser için risk artışı ile ilişkilidir. Asetaldehit, alkolle ilişkili karsinogenez ile bilinen bir kanserojen ajandır. Bunun dışında orta derecede alkol alımı tükürükteki asetaldehitini konsantrasyonu kanserojen seviyelere arttırır. Bunun nedeni tükürükteki etanolün asetaldehit'e mikrobiyal oksidasyon nedeniyle dönüştürülmesidir (Seitz ve ark., 2005). Kuzey Avrupa ve Kuzey Amerika'da son zamanlarda yapılan çalışmalarda meme kanserlerinin % 5'i kadarının alkol kulanımı ile ilişkili olduğunu görülmektedir. Kanser riskini azaltmak için "güvenli" bir miktar alkol tüketimi bulunmamıştır. Günde iki içecek tüketimi bile anlamlı risk artışı göstermektedir (Rusyn ve Bataller, 2013).

1.6.4. Kronik Alkol Alımını Gösteren Belirteçler (Alkolizm Tespiti)

Birini alkol bağımlısı olarak sınıflandırmak için kriterler farklıdır, ancak aşırı alkol kullanımı, zarar görecek kadar artan içme sıklığı ile ilişkilendiren bir bozukluk düşünülmektedir. Erkekler için riskli içme şekilleri, haftada en fazla 14 içecek ya da ayda en az bir kez tek bir günde dörtten fazla içecek tüketmek olarak tanımlanır; Kadınlar için sınırlar haftada yediden fazla ve günde üç içkidir. Alkol kullanan veya alkol bağımlılığı olan bireylerin alkol kullanım bozukluğu olduğu düşünülmektedir. Amerikan Psikiyatri Birliği tarafından tanımlanan alkol suistimali, sağlık, esenlik ve kişilerarası ilişkiler için olumsuz sonuçlara rağmen alkollü içeceklerin tüketildiği psikiyatrik bir durumdur. Alkol bağımlılığı, tüketilen alkol için artan tolerans ve içmeyi bıraktıktan sonra yoksunluk belirtileri gibi ek fizyolojik sonuçlara yol açabilir (Oscar-Berman ve Marinković, 2007).

Alkol alımının karakterize edilmesinde, günlük alınan etanol miktarını,alkol alımına bağlı hastalıkların tespiti, objektif klinik ve biyokimyasal testler, hem tedavi hem de araştırma alanlarında gereklidir (Viel ve ark., 2012).

Alkolizm ölçüm boyutları, biyobelirteçler ve biyo izleme şeklinde iki yönlü olarak belirtmiştir. Özellikle alkollü içecek tüketiminin epidemiyolojik

değerlendirmesi için biyobelirteçlerin kullanımı ve ömür boyu alkol kullanımının değerlendirilmesi önemlidir (IARC Monographs Volume 96, 2010).

Etil alkol düzeyinin belirlenmesinde kullanılan biyobelirteçler, direkt ve indirekt belirteçler olarak iki gruba ayrılır. Indirekt olan biyobelirteçler, alkolün organ sistemleri veya vücut kimyası üzerindeki etkilerini tespit eder ve genellikle, ortalama korpüsküler hacim (MCV), aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT) ve gamaglutamil transferaz (GGT) dahil olmak üzere alkolle ilişkili toksik etkileri işaretleyicidirler. Daha yeni direkt olan belirteçler, serumdaki etanolle ilişkili biyokimyasal değişiklikleri incelemekte ve bunlar N-asetil-beta-hekzosaminidaz (Beta-HEX), salsolinol, 5-hidroksitriptofol (5-HTOL), 5-hidroksiindol-3-asetik asit (5-HIAA), apolipoprotein J plazma sialik asit indeksi (SIJ) ve yaygın olarak kullanılan karbonhidrat eksikliği olan transferrindir (CDT). Direkt biyobelirteçlerin arasında kan etanolün yanı sıra asetaldehit, asetik asit, yağlı asit etil esterler (YAEE), etilglukuronid (EtG), etil sülfat (EtS) ve fosfatidiletanol (PEth) gibi alkol türevleri yer almaktadir. Kandaki PEth ve saçtaki YAEE veya EtG, spesifik olduğu ve alınan etanol miktarı arasında bir bağlantı olduğunu göstermektedir (Viel ve ark., 2012).

Normal koşullar altında serotoninin (5-HT) çoğu 5-HIAA'ya dönüşür ve az bir kısmı 5-HTOL'ye. Etanol alımında, etanolün etkisi altında, 5-HTOL daha yüksek konsantrasyonda oluşur ve akut alkol alımında biyobelirteç olarak kullanılabilir. Ancak alkol biyobelirteç olarak, 5-HTOL / 5-HIAA'nın oranı alkol düzeyi belirmesinde daha iyi ifade edilir. İdrarda ölçülen 5-HTOL / 5-HIAA düzeyi, etanol alımı ile ilişkilidir (Zheng, 2011).

Asetaldehit (AcH), etanol metabolizması sırasında oluşan metabolittir. Alkol dehidrojenaz ile enzimatik oksidasyon yoluyla üretilmiştir. Kimyasal reaktivitesi nedeniyle AcH, akut ve kronik alkol zehirlenmesinin tezahürlerine katkıda bulunacaktır. Ayrıca AcH konsantrasyonunun alkolizmin ayırt edici faktörü olabileceği ve bazı bireylerde kalıtsal bir anormal metabolik cevabın etiyolojik önemi olabileceği öne sürülmüştür (Djurdjic ve Stojanovic, 1998).

Yağ asidi etil esterleri, YAEE, bir esterifikasyon reaksiyonunda yağ asitlerinden ve etanolden üretilir. YAEE kanda ölçülür ve son etanol alımından sonra en az 24 saat sonra saptanabilir. Ayrıca, YAEE ölümden sonra otopsi doku örneklerinde ölçülebilir. Etanol akut kulanımının göstergesi olarak tamınlanan YAEE oldukça hassas ve özgündür. YAEE seviyesinin erkeklerde daha yüksek olduğu pek çok çalışma ile kanıtlanmıştır. EtG ve EtS, stabil ve suda çözünebilen konjugasyon sırasında oluşan iki etanol metabolitidir. Hem EtG hem de EtS, az miktarda etanol alımından kısa süre sonra idrarda saptanabilen hassas alkol belirteçlerdir. Tüketilen miktara bağlı olarak, EtG ve EtS, etanol ölçümünde 2-3 güne kadar tespit edilebilir. Alkol alımı biyobelirteç olarak, EtG ve EtS rutin klinik çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Zheng, 2011).

EtG hem post mortem hem ante mortem olgularında alkol alımının bir belirteci olarak kullanılabilir EtG ve EtS konsantrasyonları serumda, tam kan numunlerinde daha yüksek olup, serum / tam kan oranları, EtG için % 1,7 ve EtS için 1,3'tür (Høiseth, 2009).

1983 yılında, etanol ile tedavi edildikten sonra sıçan organlarındaki fosfolipidler üzerinde yapılan bir çalışmada, anormal bir fosfolipid saptandı. Daha sonra bu anormal fosfolipit PE olarak karakterize edildi. Sonra da yapılan deneyler hem hayvanlarda hem de insanlarda böbrek, beyin ve gastrointestinal kanal gibi çeşitli organlarda PEth ölçüldü. Bununla birlikte, PEth, eritrositlerde ve insan kanındaki lökositlerde bulunur ve çoğunluğu eritrosit hücrelerinde membran ile bağlanır. PEth bir etanol metabolitidir ve fosfatidilkolin'den (PC) sadece etanol varlığında enzim fosfolipaz D (PLD) etkisiyle oluşur. Alkol biyobelirteç olarak, PEth, durduktan sonra en az 14 gün boyunca ağır tüketicilerden alınan kanda tespit edilmiştir. Fosfatidiletanol, sadece etanol varlığında kanda oluşan anormal bir fosfolipittir, alkol bağımlığı saptamak için duyarlı ve spesifik bir biyobelirteç olarak kullanılmaktadır. PEth, en az 14 gün boyunca ağır alkol tüketicilerinin kanında da tespit edilmektedir (Zheng, 2011). Kandaki PEth, içme modelini karakterize etmek ve hafif-orta dereceli içmeyi yoksunluk sendromunden ayırt etmek için da kullanılabileceği belirtilmiştir. Yapılan klinik çalışmalar, kronik alkoliklerde PEth'nin 28 güne kadar kanda saptanabileceği bulunmuştur (Viel ve ark., 2012).

(a) Kan alkol konsantrasyonu

Alkolizm belirtmek için hiçbir laboratuvar testi yeterli derecede güvenilir değildir. Duyarlılıklar ve özgüllükler önemli ölçüde değişir ve popülasyona göre farklılıklar gösterir. Alkol bağımlılığı tanısı koyarken kan alkol düzeyi laboratuvar testi yanında yardımcı ölçü olarak kabul edilen birçok biyolojik belirleyiciler ile klinik ve sosyodemografik özellikler kullanılır (IARC Monographs Volume 96, 2010; Mirsal ve ark., 2002).

(b) Vücut sıvılarında etanol

Kan, idrar ve nefeste alkol konsantrasyonlarının ölçümünün sınırlı, ama önemli bir rolu vardır. Sonuçlar alkolün kullanma sıklığı hakkında bilgi vermez, ancak pozitif olduğunda, son içme ile ilgili nesnel kanıtlar verebilmektedir.

Alkol kullanımı ile ilişkili olan ve alkol bağımlılığı tanısı koyarken yardımcı ölçü olarak kabul edilen birçok biyo kimyasal belirleyici vardır. Alkol kullanım bozukluklarının tanılarının konmasında; hastanın yaşamının gözden geçirilmesi ve alkolün oluşturabileceği olası sorunların göz önüne alınması gerekmektedir. Alkol bağımlılığının değerlendirilmesinde özellikle alkolün doğrudan biyolojik etkileri olduğunu gösteren laboratuvar testleri: Gama-Glutamil-Transferaz (GGT), karbonhidrattan yoksun transferrin (CDT), ortalama korpusküler hacim (MCV), ürik asit, serum glutamik-oksalasetik transaminaz (SGOT, AST), serum glutamik-pirüvik transaminaz (SGPT, ALT), trigliseridlerdir. Bu değerlerdeki artışlar "ağır içicilik" durumunu değerlendirmede oldukça faydalı bulunmuştur (Mirsal ve ark., 2002).

(c) Serum Gama-glutamil transferaz

Serum gama-glutamil transferaz aktivitesi hepatobiliyer bozukluklar olan hastaların ve oldukça alkolik olan kişilerin serumunda artmıştır. Alkol bağımlı olanlarında yaklaşık % 75'inde serum GGT seviyeleri yüksek bulunmuştur. Kronik alkoliklerin günlük alkol alımı 40 gramın üzerinde olanlarda erkeklerin % 20'sinde ve kadınların % 15'inde yüksek serum GGT bulunmaktadır. Günlük 60 gr üstünde alkol alımı olan erkeklerin % 40-50'sinde ve kadınların % 30'unda yüksek

serum GGT bulunmaktadır. Alkol kullanımını belirlemeye yardımcı olmak için GGT test yapılır (IARC Monographs Volume 96, 2010).

(d) Serum transaminazları

GGT, AST ve ALT serum veya plazmada ölçülen karaciğer enzimleridir (Zheng, 2011). AST ve ALT konsantrasyonlarındaki hafif yükselmelerin en sık sebeplerinden birisi alkol bağımlığıdır. Genellikle bu yükselmeler normal sınırların 2-4 katından fazlası değildir (IARC Monographs Volume 96, 2010). GGT, AST ve ALT enzim seviyeleri, hepatit, karaciğer metastazı, bazı ilaçlar veya karaciğer kanseri gibi diğer faktörlere bağlı olarak artabilir, bu nedenle bu enzimlerin alkol biyobelirteçleri olarak özgünlük ve duyarlılığı düşüktür (Zheng, 2011).

e) Ortalama Eritrosit Hacmı (MCV)

MCV, kırmızı kan hücrelerinin ortalama hacmidir ve klinik kullanımda, alkol kronik kullanımı için uzun vadeli bir biyobelirteç olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. MCV değerini arttırmak için aylarca ağır alkol alımı gerekir. Alkol kesildikten sonra, kırmızı kan hücrelerinin ömür süresinin 120 gün olduğu düşünülürse, normal bir MCV değerine ulaşmak uzun zaman alır. MCV'nin özgüllüğü alkol için düşüktür, çünkü diğer faktörler sigara, bazı ilaçlar veya karaciğer hastalıkları gibi yüksek değerlere de katkıda bulunabilir (Zheng, 2011). Transferrin, karaciğerde sentezlenen ve vücuttaki Fe^{3+} iyonlarını taşıyan bir glikoproteindir. Normal olarak, transferrin farklı glikoformlardan oluşur ve uzun süreli etanol tüketimini takiben karbonhidrattan yoksun transferrin (CDT), adı verilen bir glikoform kullanılmaktadır (Zheng, 2011).

1950'lerde LSD, alkolizm tedavisinde bir yardımcı ilaç olarak kullanıldı, ancak şu anda ABD'de kabul edilen, tıbbi kullanımı olmayan federal Kontrollü Maddeler Yasası'nın (The Controlled Substance Act) yürürlüğü altında sentetik halüsinojen olarak sınıflandırıldı (Karch, 2006).

1.7. Alkol ile İlişkili Yasalar

Codex alimentarius 1963 yılında DSÖ tarafından uluslararası alanda Gıda standartları ve kuralları geliştirildi (IARC Monographs Volume 96, 2010). Alkollü içecekler için, gıda katkı maddeleri (Codex alimentarius, 2006), doğal aromalar (Codex alimentarius, 1987) ve kirletici maddeler (Codex alimentarius, 1997) Kodeks'teki bölüm 1.6.6 ve 1.6.7'de ayrıntılı olarak incelenmektedir. Genelikle bu standartlar maksimum alkollü içeceklerde bulunan bazı katkı maddelerin seviyeleri hakkında bilgi vermektedir. Standartları ülkelerin çoğunluğu ulusal mevzuatlarının içine dahil etmektedir. Ancak, bazı ülkeler daha spesifik ve sıkı düzenlmeler yapabilmektedir. Örneğin, Avrupa Birliği ayrıntılı gıda katkı maddeleri için düzenlemeler yayınladı ve viski, rom ve votka gibi spiritleri belirli kategoriler ile tanımladı. Alkollü içecekler yönetmelikleri hakkında mevcut veriler DSÖ Üye Devletleri Küresel Durum Raporu: Alkol Politikası ile gözden geçirilmiştir.

Alkollü içecekler için yönetmelikler genellikle alkol politikası veya alkol kontrol politikası olarak adlandırılır. Alkol politikası, alkollü içecek pazarının, alkol tüketim seviyesinin ve biçimlerinin ve alkol kullanımına bağlı halk sorunları sıklığının ölçülmesini ve değerlendirilmesini kapsar (IARC Monographs Volume 96, 2010). Birçok ülke, trafik yasalarında alkol etkisinde araç kullanmayı yasaklarken kandaki alkol düzeyinin belirli bir limitin üstündeki değerini (çoğunlukla % 80 mg üstünde) suç olarak kabul etmektedirler. Türkiye dahil bazı ülkeler ise sürücünün eser alkol alması halinde bile araç kullanmasını trafik suçu olarak değerlendirmektedirler. Konu, Türk Ceza Kanunu (TCK) ve Türk Medeni Kanunu'nda (TMK) açık bir şekilde tanımlanmıştır (Vural ve Saygı, 1981).

1.8. Alkol Düzeyi Tespiti

Alkol, dünyada en kolay bulunan depresan ilaçtır ve çoğu kaza olaylarında ve ölüm vakalarında tespit edilen en yaygın maddedir (Wigmore, 2014). Bu nedenle kan ve diğer biyolojik örneklerdeki alkol düzeyi tespiti sıklıkla talep edilir. Klinik laboratuvarlarda, acil servis veya hastanelerde yoğun bir şekilde talep edilir (Dubowski, 1980). Yüksek kan alkol konsantrasyonları ölümcül kaza, travmatik ölüm

ve şiddetli ölüm ile ilişkilendirilmiştir. Vücuttaki alkol düzeyi sorunu genelikle mahkemede görülen davada soz konusu olur. Bu nedenle toksikolojik amaç ve adli tıp açısından vucut sıvılarındaki alkol düzeyi ölçümü önemlidir (Shah, 2017).

Alkol, nefes ile birlikte herhangi bir su içeren vücut sıvısında kolayca tespit edilir. Yasal açısından en yaygın toplanan örnekler nefes, kan ve idrardır. Serum ve plazma örnekleri genellikle tıbbi amaçlar ve adli amaçlar için için elde edilir (Harding, 2003). Alkol tayininde en sık kullanılan kan örnekleri, periferik (kol-bacak) damarlardan kan (femoral arter ve ven gibi), aort veya pulmoner gövde (Karch, 2006). Alkol numunesinin uygun şekilde toplanması, taşınması ve saklanması, vucut sıvılarında alkol içeren adli vakalarda önemlidir. Bir numunenin toplanması ve işlenmesi doğru değilse en iyi test ve son derece yetenekli bir analist bile olsa, yanlış yorumlamaya yol açabilir. Alkol belirlenmesinde mümkün olan en uygun örneği elde edebilmek için aşağıdaki sorgulamalarla yönlendirilmelidir. Antemortem ve postmortem alkol tayini için en uygun numune hangisidir? Örneğin alınma tekniği nasıl olmalı? Örnekler hangi vucut bölgesinden alınmalıdır? Örnek depolanma zamanı için "zaman sınırları" nelerdir? (Kaye, 1980).

Post mortem etanol oluşumu adli toksikolojide yaygın bir sorundur. Genellikle etanol oluşumu düşük seviyeler (< 0,5 g / L) görülür ve bu nedenle ölüm nedeni ile ilgili bulgular değildir, ancak bunlar araba kazaları ile bağlantılı yasal ve sigorta ile ilgili konular gibi diğer nedenlerden dolayı önemli olabilir. Bazı vakalarda, etanol oluşumu önemli konsantrasyonlara (> 1,5 g / L) ulaşabilir. Özellikle etanol konsantrasyonlarının yanlış pozitif olduğu düşünülen travmatik kazalara çok sayıda örnek vardır. Etanolün post mortem oluşumu, numunelerin soğutulması ve flüorür iyonlarının konzervans olarak kan örneklerine eklenmesiyle önlenebilmesine rağmen, önemli sayıda postmortem alınan numunelerde etanol oluşum meydana gelebilir. Kandaki 0,1 g / L etanol düzeyinde vakaların yaklaşık % 50'sinin, endojen oluşumla açıklanabileceği önerilmiştir. Post mortem örneklerde etanol oluşumunda substrat çoğunlukla glikozdur ve oluşumdan bakteriler sorumludur. Bu nedenle travma sonrası özellikle abdominal olarak daha ciddi bir etanol oluşum beklenecektir (Høiseth, 2009).

Alkol analizi için uygun biyolojik örneklerin seçimiyle ilgili kararda genel olarak bir çok çeşitli faktör rol oynamaktadır. Adli alkol analizi için örneklerin

toplanması tıbbi, yasal, bilimsel ve teknik faktörlerden etkilenmektedir (Dubowski, 1977).

1.8.1. Canlılarda Alkol Düzeyi Tespiti

1.8.1.1. Canlılarda Kan Alkol Düzeyleri

Adli alkol analizi için kan en yaygın şekilde elde edilen biyolojik sıvıdır (Dubowski, 1977). Plazma veya serum fizyolojik olarak tam kan numuneden daha uygun örneklerdir. Ancak, belirli adli olaylarda (örneğin, soruşturma) yasal yorumlar yapabilmek için tam kan analizi de gerekmektedir. Plazma ve tam kan numunelerin toplanması ve uygun depolanması için heparin, disodyum edetat, sodyum veya potasyum, sitrat veya oksalat gibi antikoagülan kullanımını gerektirir. Korunması gereken steril kan örnekleri için, potasyum oksalat (5 mg / ml kan) ve sodyum florür (1,5 mg / ml kan) 5 °C'de kısa süreli depolama için uygun antikoagülanlardır (Dubowski, 1980).

Inglitere, Amerika Birleşik Devletleri, Kanada ve Malezya gibi ülkelerin çoğunda trafikteki Yasal Kan Alkol Konsantrasyonu (BLAC) sınırı 0,80 mg / ml veya 80 mg / 100 ml'dir (Shah, 2017).

Kandaki alkol konsantrasyonu ceza ve sivil davalarda kanıt olarak kulanir. Mahkeme sırasında adli toksikologtan genellikle postmortem kanda ölçülen alkol konsantrasyonları hakkında uzman görüşü istenir. Bu nedenle, postmortem tespit edilen kan alkol konsantrasyonu doğru bir şekilde yorumlamak için, safra, göz içi sıvı, beyin omurilik sıvısı, sinovyal sıvı, orta kulak sıvısı, göğüs veya mide içeriği, idrar gibi vucutaki alkol seviyesi tayin edebilmek için çeşitli ek örneklerin toplanması ve analiz edilmesi önerilmektedir. Bu vücut sıvıları, bakteri kontaminasyonuna veya alkol difüzyonuna daha az maruz kalmaktadır (Shah, 2017).

Aşağıdaki alkol düzeyi için "ortalama" doku / kan oranları "dönüşüm faktörleri" olarak hesaplanmıştır (Kaye, 1980):

Kan	1,00 (birlik)
Karaciğer	0,63
Beyin	0,66
Serum	1,25
Omurilik sıvısı	1,20
Göz içi sıvısı	1,20
İdrar	1,28
Nefes	2100 (1: 2300)

Alkol alımının bitiminden sonraki saatler içerisindeki kan alkol değerlerinin belirlenmesi ile ilgili olarak İsveçli bilim adamı Erik M. P. Widmark formülleri geliştirilmiştir (Harding, 2003). Kanda alkol miktarının hesaplanması için, Widmark'ın metodu, kullanılmmaktadır (Watson ve ark., 1981). Bir kişinin kilosuna, cinsiyetine ve alınan alkol miktarına göre kan alkol konsantrasyonu hesaplanabilir (Harding, 2003).

A= r x p x Co

A: alınan alkol miktarı (gram olarak); **c:** Kan alkol konsantrasyonu 0 satte (% gram olarak); **p:** Vücut ağırlığı (kilogram olarak); **r:** Sabit sayı (erkek için 0,7; kadın için 0,6) (Watson ve ark., 1981).

Çoğu klinik veya toksikoloji laboratuvarı, örnekleri toplayıp santrifüjden geçirerek tam kandan elde edilen serumda analizlerini gerçekleştirir. Bir molekülün plazma suyu ile kanın eritrosit fraksiyonu arasındaki dağılımı, molekülün büyüklüğüne, suda çözünürlüğüne, plazma proteinlerin bağlanma derecesine ve diğer faktörlere göre değişmektedir. Adli toksikoloji, tam kanı bir ortam olarak kullanır ve bu nedenle klinik laboratuvarlardan elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldığında serum / tam kan oranları önemlidir. Örneğin, tetrahidrokanabinol konsantrasyonu, tam kandan ziyade serumda ölçüldüğünde neredeyse iki kat yüksek bulunmuştur. Bu oran etanol için de iyi bilinir. EtG ve EtS konsantrasyonları serumda ölçüldüğünde tam kandan daha yüksek olduğunu bulunmaktadır (Høiseth, 2009).

Serumun plazmadan farkı, serum içerisinde anti-koagülan yoktur. Serum, kana herhangi bir madde ilave etmeksizin kan pıhtılaştıktan sonra oluşur. Plazma, elde edilirken kandan hücresel kısımlar çıkarılmak için antikoagülan ilave edilir ve santrifüjden sonra üstte kalan sıvıya plazma denilir. Tam kanın su kısmını olduğu için, serum veya plazma numunelerin alkol konsantrasyonu daha yüksektir. Serum veya plazma örneklerin tam kan alkol konsantrasyon ortalama oranları yaklaşık 1,14: 1'dir (Harding, 2003).

Uygun antikoagülanlar sitrat, edetat, oksalat tuzları ve heparindir. Florid tuzlarının hem antikoagülan hem de koruyucu etkisi vardır ve çeşitli civa tuzları ve azid tuzları uygun koruyuculardır. Sodyum sitrat veya potasyum oksalat (5 mg / ml kan) sodyum florür (1 mg / ml kan) ile yaygın olarak kullanılmaktadır (Dubowski, 1977).

Alkol veya diğer uçucu organik maddeleri içermeyen bir dezenfektan kullanarak venipunktur sitesinin düzgün bir şekilde temizlemesi gerekmektedir. Bu amaçla en sık kullanılan dezenfektanlar sulu benzalkonyum klorür veya povidon-iyodindir. Alkol içeren materyaller venipunktur sitesinin temizlenmesi için kullanılırsa kan örneklerinin önemli ölçüde kontamine olma riski bulnmaktadır (Kocak ve ark., 2015).

1.8.1.2. Göz İçi Sıvısı

Postmortem örneklerde ölüm zamanındaki kan alkol konsantrasyonunun (BAC) tayini birçok faktörden etkilernir. Bunlar, örneğin alınma bölgesi, örnek toplama tekniği, travma (kontaminasyon), ölümden sonra örneğin alınma zamanı, mikroorganizma kontaminasyonu, difüzyon, çevresel faktörler, saklanma ve korunma koşullarıdır. Alkolle ilgili sık sık birçok vaka olmasına ve buna bağlı tecrübelere rağmen, postmortem alkol bulgularının değerlendirilmesinde hala çok dikkatli olunmalıdır. Vitröz sıvı vucuttaki periferik bir bölgede olması nedeni ile kana göre bakterilerin kontaminasyonuna daha az maruz kalmaktadır.

BAC ve göz içi sıvısı alkol konsantrasyon (VAC) arasındaki kantitatif ilişki bir çok çalışmada çeşitli örnek boyutları kullanılarak incelenmiştir. Emilim edilen etanol

vücuttaki su içeriğine göre dağıtılır. Göz içi sıvısı alkol konsantrasyonu / kan alkol konsantrasyonu oranından genelikle % 10-20' daha yüksek görülmektedir.

Bu farklılık örnekleme teknikten kaynaklı olabilir. Göz içi sıvısı alkol konsantrasyonu (VAC) metabolik dengedeki kan alkol konsantrasyonunu (BAC) takip eder. Bu nedenle absortif fazdaki kan alkol konsantrasyonu vitreus alkol konsantrasyonundan daha fazladır. VAC / BAC oranları birden fazla faktörden etkilenir, özellikle ölümden önce alkol içme zamanı. Alkol içtikten kısa süre sonra VAC / BAC oranının, daha yakın olması beklenebilir. Post-absortif denge fazında, kan alkol konsantrasyonu vitreus alkol konsantrasyonu oranı bu matrikslerin değişik su içerikleri nedeni ile farklıkları göstermektedir. Postabsorbtif veya eliminasyon fazında VAC kan alkol konsantrasyonundan daha yüksektir. BAC'yi etkileyebilecek pek çok faktörden, postmortem alkol üretimi her zaman düşünülmelidir. Postmortem alkol sentezi tipik olarak 0,07 g / 100 mL daha az olmasına rağmen, bazı vakalarda 0,1 g / 100 mL'den daha yüksek konsantrasyonlar da bildirilmiştir. Postmortem alkol üretimine mikroorganizma türleri, postmortem zaman aralığı, sıcaklık, çevre koşulları, vucut üzerindeki travma gibi birçok faktörden etkilenir (Honey ve ark., 2005). Ölümden sonra vücutta alkol üretme olasılığı, mikrobiyal kontaminasyon ve fermantasyon yoluyla bir çok vakalarda tekrarlayan bir konudur. Etanol ölüm anında midede emilmemişse, ölümden sonra yakın olan dokulara ve dolaşm sisteminin içine devam eden bölgesel difüzyon olasılığını arttırır. Göz içi sıvısı bu nedenle özellikle endojen alkol üretimin kaçınılmaz olduğu postmortem analizinde çok faydalı bir numune olarak görülmektedir (Kugelberg ve Jones, 2007).

Canlı insanlardan alınan kan örneklerine, rutin koşullar altında pıhtılaşmayı önlemek için antikoagülanların ilave edilmesi gerekmektedir. Antikoagülan koruyucu madde ile kullanılması verimli bir şekilde örnek dekompozisyonunu ve alkol kaybı ya da neoformasyonu geciktirmektedir (Dubowski, 1977).

1.8.1.3. Nefes Alkol Konsantrasyon

Nefes alkol testi, adli tıp biliminin alkol tayınında en eski yöntemlerinden ve ilk 1867 yılında ünlü İngiliz doktoru ve araştırmacı F.E. Anstie tarafından

tanımlanmıştır (Wigmore, 2014). Nefes-alkol analizine katılabilir hastalar için nefes her zaman tercih edilen örnektir. İkincisi, kullanım kolaylığı, noninvazif örnekleme ve hızlı sonuç elde etme avantajlarına sahip olan solunum havasında alkol ölçüm yöntemi yaygın olarak kullanılmaktadır. Nefesteki etanol konsantrasyonu arterial kan alkol konsantrasyonlarını yansıttığından uygun bir biyolojik materyaldir (Dubowski, 1980). Nefes alkolü ölçümü, özellikle trafik denetlemelerinde ve diğer adli olaylarda da yaygın olarak kullanılmaktadır. Sonuç kandaki alkol konsantrasyonunu ifade edilmektedir ve nefesteki alkol kandaki miktarın oldukça iyi bir göstergesidir (Vukovic ve ark., 2015).

Solunum havasındaki alkol konsantrasyonu, kandaki konsantrasyonunu düzenli bir oranda yansıtır; yasal amaçlı nefesteki alkolün kan alkolüne oranı 2100:1 ya da 2300:1 olarak kabul edilmiş (Kaye, 1980). Alkolün emilimini, dağılımını ve eliminasyonu etkileyen değişkenler üzerinde birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmaların bir kısmı, nefesteki etanol düzeyi (BrAC) ölçümünü, kan örneklemesinden daha az invaziv olduğunu göstermektedir (Vukovic ve ark., 2015). Uçucu maddeler, alkol içeren kan akciğerlerden geçtiğinde, kandaki alkol miktarı, nefesdeki alkol miktarı dengeli ve sabit bir orandadır. Bu nedenle, derin akciğer havasının analizi ile BAC belirlenebilir. Akciğerler özellikle kan ve nefes arasında hızlı ve verimli gaz değişimi bilinmektedir (Wigmore, 2014). Solunum havasında alkol (BrAC) periferal venöz kanda (BAC) alkol konsantrasyonundan daha yüksek olabilir. Emilim fazında, arteryel kandaki alkol konsantrasyonu venöz kandan daha yüksektir ve üflemeden önce akciğerdeki ölü boşlukların havası dışarı atılmalıdır ve bu nedenle zorunlu bir ekspirasyon gerekmektedir. BrAC ölçümlerinin yasal olarak gerçekleştirilmesinden önce birçok ülkede alkollü içeceklerin alımından sonra 15 dakikalık bir bekleme süresi gözlemlenmelidir. Bazı çalışmalarda aç karnına alkol tüketildiğinde BrAC sonuçların güvenilir hale gelmesi için 15 dakikalık bir bekleme süresinin yeterli bir zaman olmadığı görülmüştür (Vukovic ve ark., 2015).

Kullanım kolaylığı ve hızlı sonuç elde etme avantajlarına sahip olan solunum havasında alkol ölçüm yöntemidir. Alveol havası içindeki alkol klirensi 0,16 L / saat'dir. Etanolün renal klirensi 0,06 L / saat ve ter klirensi 0,02 L / saattir (Holford, 1987).

1.8.1.4. Alkolmetre Yöntemi

Ne yazık ki, alkolmetre mükemmel şekilde çalışsa da ve odanın sıcaklığı veya nemi gibi ölçüm koşulları standart olsa bile, nefes ve doğrudan kan analizi sonuçları arasındaki farklar gözlenir. Buna, bir kişinin vücut sıcaklığındaki farklılıklar, solunum modeli, verilen örnek hacmi, uflemeden önce nefes alma şeklindeki değişiklik, alkol metabolizmasının fazı veya analitik yöntemlerde belirsizlikler neden olabilir. Bu farklılıklar yüksek alkol düzeyleri için özellikle önemlidir (Zuba ve ark., 2000).

Polis tarafından nefes alkol konsantrasyonlarını ölçmek için kullanılan alkolmetre cihazları fuel hücresi (EC), infrared (IR) ve çift EC/IR olarak 3 gruba ayrılmaktadır. Hem IR hem de yakıt hücresini de içeren yöntem vardır.

İnfrared ışık, kırmızı ışıktan daha uzun bir dalga boyuna sahip olduğunda görülemeyen bir ışıktır. Alkol molekülü (C_2H_5OH), yaklaşık 3,4 ve 9,4 mikrometre (um) dalga boylarında IR ışığını maksimum olarak absorbe edilir.

Polis tarafından sık kullanılan başka bir alkol olçümü tekniği, yakıt hücresi veya elektrokimyasal detektördür. Yakıt hücresinin temel prensibi, nefesteki alkol gibi uçucu bileşikleri okside etmesi ve aşağıdaki gibi alkol konsantrasyonu elektrik akımı üretmesi ile doğrudan orantılıdır:

$$CH_3CH_2OH + 3H_2O \rightarrow 2CO_2 + 12H^+ + 12e^-$$

Alkol, sırasıyla karbon dioksit, hidrojen ve elektronlara kadar oksitlenir. Hidrojen, su oluşturmak için havadaki oksijen ile birleşir.

Çift EC/IR, hem IR hem yakıt hücresi yöntemlerini içerir. Tipik olarak IR, nefes örneğini izlemek, nefes numunesinin homojenliğini belirlemek ve ağız alkolünü kontrol etmek için kullanılır. Daha sonra alkol konsantrasyonunu belirlemek için yakıt hücresi kullanılır (Wigmore, 2014).

Alkolmetre cihazın genelde yazıcısı olur ve cihaz sonucları yazılı çıktısı olarak verilir. Nefes analizi, "ön tarama prosedürü" olarak uzun yıllar başarıyla kullanılmıştır (Kaye, 1980).

1.8.1.5. Tükürük

Salgılama sırasında tükürük periferal kan dolaşımında alkol düzeyi genellikle dengede kabul edilir. Bu nedenle, tükürükte bulunan alkol, kan-alkol konsantrasyonunu tahmin etmek için kullanılabilir (Dubowski, 1977). Ancak, tükürükte su oranı daha yüksek olduğundan alkol konsantrasyonu da kana göre daha yüksektir (Riveros-Rosas ve ark., 1997).

1.8.1.6. Beyin Omurilik Sıvısı

Beyin omurilik sıvısı, alkol analizi için pratik değere sahip bir numune değildir. Tek uygulanabilirliği muhtemelen sıradışı vakalarda kendi mevcudiyetinin dışında diğer biyolojik sıvılar olmadığında klinik teşhis için kullanabilmektedir (Dubowski, 1977).

1.8.2. Postmortem Alkol Düzeyi Tespiti

Ölümden sonra otopsi sırasında en yüksek çoğunlulukla kan (kalp veya femoral ven), idrar, beyin ve göz içi sıvısı örnek olarak alınır.

1.8.2.1. Postmortem Kan Örneklerinde Alkol Düzeyi Tespiti

Uygun şekilde seçilmiş (toplama sitesi ile ilgili olarak) ve toplanmış kan örnekleri, parçalanmayan vücutlarda ilk tercih edilen postmortem örnekleridir.

Otopsi yapılmayan vücutlarda ekstremitelerdeki büyük kan damarları (örn., femoral arter veya ven), önerilen örnekleme sitesidir. Böylece organ rüptürü veya gastrointestinal sistem içine iğne penetrasyonu durumlarında, tanınmayan yoluyla iç örnek kontaminasyonu gibi sorunları ortadan kaldırmaktadır (Dubowski, 1977).

Antekübital venden alınan kan örnekleri canlılar için en uygun örnek tip iken, femoral venöz kan örnekleri ölümden sonra en uygun örneklerdir (Kocak ve ark., 2015).

Postmortem kan örnekleri, mikrobiolojik kontaminasyon riskiyle birlikte bakteriyel kaynaklı alkol üretimi ve önemli enzimatik değişikliklerin engellenmesi amaciyla örneklemeden önce yüksek konsantrasyonlarda koruyucunun kullanılmasi önerilmektedir (Dubowski, 1977).

Adli olaylarda, kan alkol düzeyi ölçümü olay sonrası hemen yapılamadığından elde edilen sonuçlar tartışmaya yol açmaktadır. % 1 w / v (ml kan başına 10 mg) konsantrasyonunda sodyum florür kullanımı bir çok çalışmada etkili bulunmuştur. Kan örnekleri oda sıcaklığında ve 1°C'de 10 ay depolandıktan sonra başlangıçtaki alkol içeriğinde anlamlı bir değişiklik bulunamadı. % 0,2 w / v sodyum florür konsantrasyonunun, mikrobiyal inokulasyonlar ile kontamine olan otopsi kan örneklerinde alkol neoformasyonunu tutarlı bir şekilde önlemediğini, ancak % 1 w / v sodyum florürün otopsi kan örnekleri için yeterli bir koruyucu olduğu bulunmuştur. Aynı şekilde, kanın ml'si başına 10 mg sodyum florid ilavesi, *C. albicans* ile inoküle edilen örnekler haricinde, mikrobiyal kontaminasyona rağmen 37°C'de 24 saat inkübasyondan sonra kan örneklerinde etanol üretimini önlemiştir. Her ml kan başında 5 mg sodyum sitrat ve 0,1 ml mercurik klorür antikoagülan koruyucu karışımın kullanılmasında kandaki alkol konsantrasyonu oda sıcaklığında altı ay ve daha uzun süreler boyunca değişmemektedir.

Başka bir çalışmada otopsi sonrası % 1 w / v sodyum florür ile işlenmiş ve alkol içermeyen kan numunelerinin, 45 güne kadar buzdolabında depolanmasında alkol üretilmediği gözlenmiştir (Dubowski, 1977).

1.8.2.2. Beyin Omurilik Sıvısı

Beyin omurilik sıvısı gastrointestinal yola uzak olması ve kontaminasyon ile ilgili olarak nispeten korunan pozisyonu nedeniyle adli olaylarda alkol belirlenmesi için en uygun postmortem örnektir. Ancak BAC'nin tahmin edilebilmesi için uygun bir numune değildir. Örnek, cesetlerden uygun bir şekilde uzman, genellikle patolog tarafından alınmalıdır. Örneklenmeden önce su veya kan ile numune seyreltisine dikkat edilmelidir. 10-30 ml'lik bir numune hacmi uygundur. Çoğu postmortem kan örneklerin daha fazla in vitro olarak pıhtılaşmayacağı bilinmektedir,

yine hem antemortem hem postmortem kan örneklerine antikoagulan ve koruyucu maddesinin ilave edilmesi önerilmektedir. Beyin omurilik sıvısı numunelerinin koruma ve depolaması tam kan gibi işlenmelidir. Genellikle otopsiden çıkan örnekler olduğu için, mikrobiyal kontaminasyon ihtimali yüksektir ve düşük sıcaklıkta tercihen -20 ° C'de depolanmalıdır (Dubowski, 1977).

1.8.2.3. İdrar

Uygun bir şekilde toplanmışsa, kan, su ya da diğer maddeler içermezse alkol analizi için uygun bir örnek olabilir. Postmortem olarak idrar örneklerinin toplanmasının sebebi alkolun dışında başka ilaçların veya onların metabolitlerinin tespit edilmesi. Alkolün hem antemortem hem de postmortem olarak idrar kesesi mukozasından difüzyon ile geçişi saptanmıştır. Genellikle otopsiden çıkan örnekler olduğu için, mikrobiyal kontaminasyonu ihtimali yüksektir ve düşük sıcaklıkta tercihen -20 ° C'de depolanmalıdır (Dubowski, 1977).

1.8.2.4. Göz İçi Sıvısı

Göz sıvısı ("vitröz humor") daha korungan olması nedeniyle kontaminasyon ve kokuşmadan daha az etkilenir. Bu nedenle de alkol tayini için iyi bir örnektir. Dekomoze edilen vucutlarda, genellikle diğer örnek materyallerden daha az etkilenir ve diseksiyon olmadan erişilebilen örnektir. Postmortem alkol analizinde göz içi sıvısının numune olarak kullanılması yaygın olarak çalışılmasına rağmen, postmortem değişikliklerin derecesine göre elde edilen değerler farklılık göstermektedir. Birçok çalışmalarda, alkol analizinde post mortem numune olarak göz içi sıvısının kullanımını ve sonuçların yorumlanması açıklamıştır. Cesetlerde göz sıvısının da örneklenmesi kolaydır, ancak, uygun şekilde, kontaminasyon veya seyreltme olmadan uzman kişi tarafından yapılmalıdır. Mevcut tüm vitröz sıvısı alınması (genelde 2-3,5 ml) önerilir. Genellikle otopsiden çıkan numune olduğu için, mikrobiyal kontaminasyon ihtimali yüksektir ve analiz edilene kadar soğuk bir ortamda saklanmalıdır (Dubowski, 1977).

1.9. Kan Etanol Tayın Yöntemleri

Alkolün küçük miktarlı olan kan nunumenelerinde belirlenmesi için çok sayıda yöntem belirtilmiştir ve McNally ve Coleman tarafından bu yöntemlerin kapsamlı bir literatür verilmiştir. Çoğu prosedür alkolün uçuculuğuna ve etanolu oksitleyici ajanların azaltma gücüne bağlıdır (MacLeod, 1949).

Biyolojik örneklerde etanol konsantrasyonunun belirlenmesi için eski prosedürlerin adaptasyonu ve yeni yöntemler sıklıkla yayınlanmaktadır. Teknoloji ilerledikçe, analistler de yeni geliştirilen konseptleri etanol analizlerine uyguladılar.

Tüm yöntemler uygun biyolojik örnekler, etanolün biyolojik örneklerin matriksten ayrılması, etanol düzeyi ölçümü ve elde edilen verilerin değerlendirilmesini içermekedir.

Toksikoloji laboratuvarında etanol düzeyi belirlenmesinde hangi testin uygulanacağı birçok faktöre bağlıdır. Bunlar örnek türü ve miktarı, istenilen özgünlük, hassasiyet ve doğruluk, beklenen konsantrasyon aralığı, sonuçların ne kadar sürede gerekli olduğu ve mevcut personel ve cihazların bulunmasıdır (Sunshine ve Hodnett, 1971).

1.9.1. Mikrodifüzyon Yöntemi

Mikrodifüzyon analizi Conway ve arkadaşları tarafından keşfedildi ve ilk olarak yöntem, örnek bir çözelti içinde sadece bir uçucu bileşenin tayın edilmesi için kullanıldı. Yeni prosedürde, etanolün belirlenmesi için eski yöntemler modifiye edildi (Ishihara ve Ishizaka, 1971).

Mikrodifüzyon yönteminin, tam kan ve idrarda etanolün tayını için uygun bir tarama testi olduğu bilinmektedir. Nispeten ucuz ve hızlıdır ve bu nedenle daha pahalı veya zaman alıcı bir doğrulayıcı yöntemden önce numunelerin taranması için ideal bir yöntemdir. Mikrodifüzyon yönteminin belirtilen etanol tespit limiti % 0,01 (Cox ve Crifasi, 1990).

Reaktif olarak asit dikromat ya da potasyum dikromat çözeltisi kullanılır. Stok alkol standardı ve kalibrasyon için standart hazırlanır. Conway-Mikrodifüzyon yönteminde, kapalı bir sistemde analizi yapılacak biyolojik materyalle (kan, idrar, ezilmiş organ) bundan uçucu maddeyi açığa çıkaran reaktif (doymuş potasyum karbonat) dış odacıkta, serbest hale geçen maddeyi tutan çözücü (asit-dikromat) ise iç odacıkta bulunur. Oda sıcaklığı 37°C'de buhar veya gaz haline geçen uçucu zehir bu kapalı sistemde difüzyona uğrayarak iç odacıktaki çözücü içinde çözünür ve sıvı faza geçer. Kapiler pipet yardımıyla bir saat etüvde bekletildikten sonra iç odacıktaki çözelti alınarak spektrometrede 450 nm'de suya karşı absorbansları okunur (Vural, 2000).

1.9.2. Enzimatik Yöntem

Bu yöntemde prensip alkol dehidrogenaz (ADH) enzimi ile etil alkolün NAD tarafından enzimatik oksitlenmesi ve NADH oluşumu ve oluşan bu NADH'nin doğrudan UV alanda (340 nm) spektrometrik veya florimetrik olarak ölçülmesine dayanır (Vural, 2000).

Enzimatik yöntemi alkol ölçümü için duyarlı ve basit bir yöntemdir. Bu yöntem pratik bir yöntemdir ve ihtiyaç duyulduğunda gaz kromatografisi için yedekleme prosedürü olarak kulanılır. 260 veya 340 nm'de UV alanında spektrometrik veya florimetrik olarak ölçülmesi yapılır (Dubowski, 1980). Koenzim nikotinamid adenin dinükleotidin (NAD^+) varlığında alkol dehidrogenaz, aracıyla etanolün asetaldehite oksitlenmesi gerçekleşmektir.

$$C_2H_5OH + NAD(+) \xrightarrow{ADH} CH_3CHO + NADH + H(+)$$

Bu enzimatik reaksiyona göre oluşan NADH'ın renkli komplekslerine göre tayin yapılır.

Reaksiyonun 37 ° C'de 45 dakika içinde tamamlandığı bulunmaktadır. Bu teknikte, çözünmüş enzim kullanılması nedeniyle analistler aynı örnek veya kiti tekrar tekrar kullanamaz ve bu da yöntemi pahalı hale getirir. Kanda ve serumda enzimatik yöntemle etanolün ölçülmesi için fluorometrik, amperometrik ve spektofotometrik detektörler kullanılmaktadır. Spektrofotometrik detektörlerin kullanılması kandaki etanol tayininde bazı sorunlar ortaya çıkarabilir. 340 nm'de, NADH absorbanslarının ölçüldüğü dalga boyu, haemoglobin absorbansı nedeniyle yüksek arka plan sinyalleri gözlemlenmiştir. Bu nedenle, analizde kullanılan örneğinin önce bir ön-işlemleri yapılması gerektirir (Maeder ve ark., 1990).

1.9.3. Gaz Kromatografi-Kütle Spektrometresi (GC-MS)

Bir adli veya hastane toksikoloji laboratuarında kan ve idrar örnekleri çoğunlukla gaz kromatografisi ile analiz edilir. Adli numuneler genelde anti-koagülan ve koruyucu içeren vialler içinde toplanan tam kan örnekleridir. Analist (kimyager, toksikolog, kriminalist, tıbbi teknoloji uzmanı, vb.) bilimsel olarak yüksek bir dereceye sahip ve sonuçları yorumlamak için yeterli uzmandır (Harding, 2003).

Gaz kromatografisi (GC) ve kütle spektrometrisi (MS) ünitelerinin birlikle çalıştığı yapı uçucu ve yarı uçucu bileşiklerin analizi ve miktar tayininde kullanılan sistemdir. GC ayrıştırma işlemi kapiller kolonlar aracılığı ile maddelerin büyük çözünürlük ile ayrıması sağlanır, ancak onları tanımlayamaz. MS en çok maddelerin detaylı yapısal bilgilerini verip onları tanımlanabilmelerini sağlamaktadır (Hites, 1997). Kütle spektrometre, etanolün serbest iyonlarının manyetik ya da elektriksel bir alandan geçerken diğer yüklü partikülllerden kütle/yük oranlarına göre ayrılmaktadır (Andersen ve Wise, 1986). Bu nedenle iki tekniğin kombinasyonunun, 1950'li yılların ortalarında gelişimden kısa bir süre sonra önerilmesi şaşırtıcı değildi (Hites, 1997).

GC-MS uçucu olan ve ısıya duyarlı bileşiklerin ayrıştırılması için kullanılan bir kromatografi tekniğidir.

1.9.4. Headspace Gaz Kromatografisi (HS-GC)

Headspace Gaz Kromatografisi (HS-GC) aslında yeni bir yöntem değil gaz kromatografı tekniği gelişiminden beri kullanılmaktadır. Çoğu numunenin belirli bir analitik teknik kullanılarak spesifik yöntem uygulanması için hazırlanması gerekir. Bu temizleme prosedürlerinin çoğu, solvent ekstraksiyonu, katı faz ekstraksiyonu veya süperkritik akışkan ekstraksiyonu gibi bazı ekstraksiyon prosedürlerini kullanır. Bununla birlikte, oldukça uçucu bileşiklerin analizi için, bir inert gaz kullanılmaktadır. Gaz, kullanımı kolay ve çoğu organik çözücüye göre çok daha yüksek bir saflıkta sahip olduğundan uçucu bileşikler için ideal bir çözücüdür. Bu avantajlar, eser analizi için oldukça önemlidir. Gaz kromatografi tekniğinde bir gaz çözücü olarak kullanılırsa, bu kombinasyona "headspace – gaz kromatografisi" denir (Kolb ve Ettre, 2006).

Headspace tekniği çok sayıda numune ile otomatik olarak çalışma imkanı vermektedir (Vural, 2000).

1.9.5. Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometresi (LC-MS)

Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometresi (LC-MS) uçucu olmayan ve ısıya duyarlı bileşiklerin ayrıştırılması için kullanılan bir kromatografi tekniğidir. Gaz kromatografisine çalışma yöntemi olarak benzemekle birlikte, mobil faz olarak sıvı kullanılmaktadır. Analiz sırasında ayrıştılan maddenin bozulmadan son derece saf olarak elde edilmesi ve yüksek ısı gerekmemesi en büyük avantajdır. Yüksek bir duyarlılık ve kesinlik sağlaması nedeniyle, biyolojik örnekler de etanol analizlerde yaygın olarak kullanılmaktadır (Fenn ve ark., 1989).

1.9.6. Sıvı Kromatografi–Kütle/Kütle Spektrometresi (LC-MS/MS)

İki kütle detektörü birbirine bağlandığında, bir çarpışma hücresi kullanılarak, bunlar MS / MS veya tandem MS olarak adlandırılmaktadır. Kütle spektrometresi / kütle spektrometresi (MS / MS) veya tandem kütle spektrometresi, ise kantitatif uygulamalar için yüksek bir duyarlılık ve kesinlik sağlamaktadır. İki kütle detektörü kullanımı spesifikliği artırır ve hedeflenen bileşimin molekül ağırlığı daha kolay ve

çok hızlı bir sürede belirlenebilmektedir. MS sistemi, uygulamaya bağlı olarak farklı modlarda çalıştırılabilir (Halket ve ark., 2004).

1.9.7. Alkol Analizinde Yanıltıcı Durumlar

Alkol testleri, yanlış negatif (alkol toleransı nedeniyle) ve yanlış pozitif (tıbbi hastalıklara bağlı olarak) sonuçlara yol açabilir. Adli toksikoloji açısından önemli bir sorun, diğer kaynaklı belirgin uygunsuz davranış ve psikolojik değişikler ile sarhoşluk arasındaki ayrımdır. Bozulma, sıfır BAC ile karşılaştırıldığında bir görevi yerine getirme yeteneğinin azalmasıdır. Zehirlenme ise, konuşma bozukluğu, azalan koordinasyon ve kademeli yürüyüş gibi alkolün fiziksel etkilerini ifade eder ve genellikle "sarhoş" olarak adlandırılır. Diğer taraftan alkol ile insan performansının bozulması, alkol kaynaklı zehirlenmeden çok önce ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle, alkol alınan bir kişinin davranışlar uygunsuzsa da, bir kaza riskinin artmasına neden olursa da, o kişi sarhoş görünmeyebilir.

Kronik içenler ve alkole bağımlı insanlarda, alkolden kaynaklı fiziksel değişikliklerine karşı "tolerans" geliştirir. Bu nedenle polisin trafikteki sürücünün sarhoş olup olmadığını belirlemede, tıp doktorlarının alkol bağımlılığı olan hastalarda alkol kronik intoksikasyonu tespitinde zorluk yaşayabilmektedir (Wigmore, 2014). Perper ve ark. yaptığı çalışmada, bir detoksifikasyon merkezine gönüllü olarak giren 110 alkolik, klinik olarak, hastanın alkol zehirlenmesi derecesine ilişkin bir görüş oluşturan tıp doktorları tarafından incelenmiştir. Daha sonra kan alkol konsantrasyonu belirmek amacıyla hastaların kan örneklari toplandı. Hastaların BAC'leri 0 ile 440 mg / 100mL arasında değişmektedir. BAC değeri 200 mg / 100 mL olan 54 hastanın % 35'inde klinik zehirlenme belirtisi görülmediği gözlenmiştir (Perper ve ark., 1986).

Standartlaştırılmış sarhoşluk testi ilk 1970 yıllında ABD'de polis tarafından sürücülerin alkol alımı tespit edilmesini amacıyla geliştirildi. O zamanda ABD ve Kanada'da yasalara göre alkol kullanan şüpheli sürücülerin yol kenarı nefesi taramasına izin vermemektedir. Sarhoşluk testi (SFST) 3 set fiziksel testten oluşur:

- Horizontal nistagmus
- Yürütme ve dönme testi (Koordinasyon)

- Tek ayak üzerinde durma testi (Denge)

Bu testler başlangıçta 100 mg / 100mL'nin üzerinde bir BAC'ye sahip olan sürücüleri tespit etmek için tasarlandı. Bu, ABD'de sürüş için BAC limitinin 80 mg / 100mL'ye düşürülmesine kadar devam etti. SFST'lerin doğruluğu 80 mg / 100 mL ve daha düşük BAC'lerde azalır ve 20 ila 50 mg / 100 mL'lik BAC'lerde etkili değildir, bunlar işyeri alkol testi için önemli bir BAC aralığıdır.

Alkole bağımlı insanlarda gelişmiş alkol toleransı yanlış negatif sonuçlara neden olabilmektedir (örn. Yüksek BAC'si olan ve belirgin bir zehirlenme belirtisi olmayan vakkalar), bazı olaylarda, diğer fiziksel testi ile pozitif etanol sonucu alınmış olmasına karşın kanda alkol belirlenmeyebilir. Alkol zehirlenmesini taklit eden ve aslında alkol içermeyen bir tıbbi durumdur.

Alkol analizinde yanlış pozitif sonuçlara nedenlerin bazıları aşağdaki gibiddir;

- Hipoglisemi
- Diyabetik ketoasidoz
- Serebrovasküler hastalıklar
- Nöbetler
- Subdural hematom
- “Beyin sarsıntısı sonrası” sendromunu
- Hipoksi
- Hipotansiyon
- Hipertermi/ Hipotermi (Wigmore, 2014).

1.10. Tezin Amacını

Bu tezde, belirli miktarda alkol tüketen gönüllülere ait plazma ve serum örneklerinde; enzimatik yöntem ile elde edilen sonuçlar karşılaştırılarak, alkol kullanımının belirlenmesinde etanol düzeylerinin ölçümü sonucunda matriks etkisinin olup olmadığının tespit edilmesi amaçlanmıştır. Aynı zamanda farklı depolama dönemleri için +4 °C'de ve -80° C'de serum örneklerinde etanol stabilitesini karşılaştırmayı amaçladık. Bu çalışmada zamanla kan örneklerindeki etanol düzeyinde

değişim olabilir mi? Bekletilen serum örneklerinde etanol düzeyi zamana bağlı olarak artar mı ya da azalır mı? Bu değişim hızlı mıdır? Plazmayla serum örneği arasında fark var mıdır? Sorularına cevap aranacaktır. Daha sonra kandaki etanol düzeylerinin analizi için kan numunelerinin depolanması için standart bir protokol oluşturmaya çalıştık.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Çalışma Protokolü

Bu çalışma, Ibn-Sina Hastanesi Merkez laburatuvarı'nda gerçekleştirildi. Çalışma, Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak gerçekleştirildi. Ibn-Sina Merkez laburatuvarına EtOH barkodu ile biokimya türünde gelen plazma ve serum örneklerindeki etanol düzeyinin belirlenmesi için Siemens ADVIA 1650-1800 kimya sistemi kullanılmaktadır. Etanol için pozitif olan olguların kan etil alkol konsantrasyonları 45,7-545,10 mg / L arasındadır. Gelen serum örnekleri kırmızı kapaklı, plazma örenkler ise mor kapaklı EDTA'lı tüpe konularak 20ºC sıcaklıkta 4000 x g'de 6 dakika santrifüj edildi. Ardından örnekler bekletilmeden Siemens marka Etanol reaktifleri kullanılarak alkol dehidrogenaz enzimatik metodu ile analiz edildi. Yöntem bir fotometrik enzim aktivitesi ölçüm metoduna dayanmaktadır. Her analiz yaklaşık 12 dakikada tamamlanmaktadır.

Gelen kan örnekleri alınıp çalışıldıktan sonra + 4 ºC'de 48 saat ve -80 ºC'de 3 ay farklı sıcaklıkta saklanmıştır. Depolanan serum örneklerinde tekrar 48 saat ve 3 ay sonra etanol düzeylerine bakılmıştır. Aynı zamanda, aynı kişilere ait plazma ve serum örneklerindeki etanol düzeylerinin etanol sonucunda matriks etkisinin olup olmadığını tespit etmeyi amaçladık. Yapılan tez çalışması planına göre; aynı kişilere ait 21 plazma ve serum örneği temin edilerek, bu örneklerdeki etanol düzeyleri belirlenmiş ve matriks etkisinin olup olmadığı tespit edilmiştir.

Serum örneklerindeki etanol düzeyinin zamana bağlı değişiminin gözlenmesi için toplam 27 serum örneği iki farklı grup temin edilerek, bu örneklere iki farklı parametre uygulanmıştır. İlk grupta (N=7) etanol düzeyi; ilk parametrede örnekler temin edildiği anda, ikinci parametrede örnekler 4 ° C'de 48 saat saklandıktan sonra ölçülmüştür. İkinci grup örnekler (N=27) -80 ° C'de 3ay depolandıktan sonra serum etanol düzeyi bakılmıştır.

2.2. Analitik Metot (Yöntem)

Kullanılan kimyasal maddeler:

- EDTA
- ADVIA® Chemistry Ethanol_2 (ETOH_2) Reaktifler

Ethanol_2 Birinci reaktif (R1) (14 ml/ 20 ml konteynerde):

- Tris tampon
- Yüzey aktif madde
- Koruyucu maddeler

Ethanol_2 İkinci reaktif (R2) (9 ml/ 20 ml konteynerde):

- MES
- Tris tampon
- Koruyucu maddeler
- Stabilizatörler
- Nikotinamid Adenin Dinükleotid (NAD, 18 mmol/L)
- Alkol Dehidrogenaz (ADH, maya >525 kU/L)

2.3. Kullanılan Araç ve Gereçler

Kullanılan Cihaz: Siemens ADVIA 1650-1800 kimya sistemi. Analizlerde serum ve plazma etil alkol seviyeleri Ankara Ibn Sina Hastanesi Merkez laboratuvarında bulunan Siemens ADVIA 1650-1800 kimya sisteminde enzimatik metod ile analiz edildi. ADVIA Kimya ETOH-2 yöntemi, Emit II Plus reaktifini kullanarak bir enzimatik reaksiyona dayanmaktadır. Reaktif 1, tamponlama sistemini içerir. Reaktif 2, ADH, NAD, tampon, koruyucular ve stabilizatörler içerir. ADH, etil alkolün asetalaldehid'e oksidasyonunu katalize eder. Bu reaksiyon sırasında NAD NADH'ye indirgenir. 340 nm'de absorbans artışı numunedeki alkol konsantrasyonuyla orantılıdır.

ADH

$$C_2H_5OH + NAD(+) \longrightarrow CH_3CHO + NADH + H(+)$$

Bu enzimatik reaksiyona göre oluşan NADH'ın renkli komplekslerine göre tayin yapılır.

Kan Alma Tüpleri:

- Serum için (Kırmızı Kapaklı):

AYSET® Pıhtı aktivatörü/Clot activator (ZS), 16x100mm, 9ml, PET,steril, REF:70656

- Plazma için (Mor Kapaklı) :

VacuSEL® K2 EDTA, 13x75mm, 4ml, PET, steril, REF: VSK2E40

Santrifüj cihazı: Nüve NF 1200 Santrifüj

Vorteks karıştırıcı : Elektro-mag M 16

2.4. Kan Örnekleri

Sadece İbn-Sina Merkez laburatuvarına etanol düzeyi ölçümü için gelen kan örnekleri çalışılmıştır. Diğer örnekler çalışma dışında kaldı. Pıhtılaşmış, hemoliz edilmiş, uzun süre bekletilen, az doldurulmuş veya fazla doldurulmuş uygun olmayan numuneler reddedildi ve uygun numuneler seçildi. Gelen serum örnekleri kırmızı kapaklı, plazma örenkleri ise mor kapaklı EDTA'lı tüpe konularak 20ºC sıcaklıkta 4000 x g'de 6 dakika santrifüjlenmiştir. Serum örnekleri, üç ayrı polistiren tüpüne konularak 2 grup olarak ayrılmıştır. Serum etanol konsantrasyonlarındaki azalmalar, farklı depolama koşullarına sahip iki grubun tümünde gözlenmiştir. Etil alkol uçucu olduğundan meydana gelen etanol kayıplarını önlemek için tüp olabildiğince kapağa kadar kan ile doldurulduu ve tüpün kapağı sıkıca kapatıldı. Serum örneklerinden biri derhal analiz edildi ve diğer serum örnekleri yeniden analiz edilinceye kadar +4° C'de ve -80 ° C'de ve iki ayrı hava geçirmez tüplerde saklandı.

2.5. İstatistik incelemeleri

Laboratuvar içi kalite çalışmasının sonuçlarının değerleri alınıp istatistik analizi yapılmıştır. Tüm değerler ortalama ± standart hata (standart error mean , Sem) olarak verilmiştir. Tüm hesaplamalarda ve istatistiksel analizlerde SPSS 15 For Windows versiyonu kullanılmıştır. Grupların birbirinden farklılığı istatistiksel açıdan gruplarda n<30 olması Eşleştirilmiş İki Örnek t-testi (Paired t-test) ve Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi uygulandı. Serum etanol düzeyi ile plazma etanol düzeylerini karşılaştırmak için verilerin normal dağılma durumuna göre Eşleştirilmiş İki Örnek t-testi kullanılmıştır. Zamana bağlı olarak serum etanol düzeylerindeki değişimi test etmek amacıyla Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi kullanılmıştır. Tüm istatistiksel testler sonucunda bulunan P değeri 0,05'in altında bir değer ise karşılaştırma sonucunda anlamlı farklılık bulunduğu anlamına gelmektedir.

3. BULGULAR

3.1. Plazma ve Serum Örneklerindeki Etanol Düzeylerinin Belirlenmesi

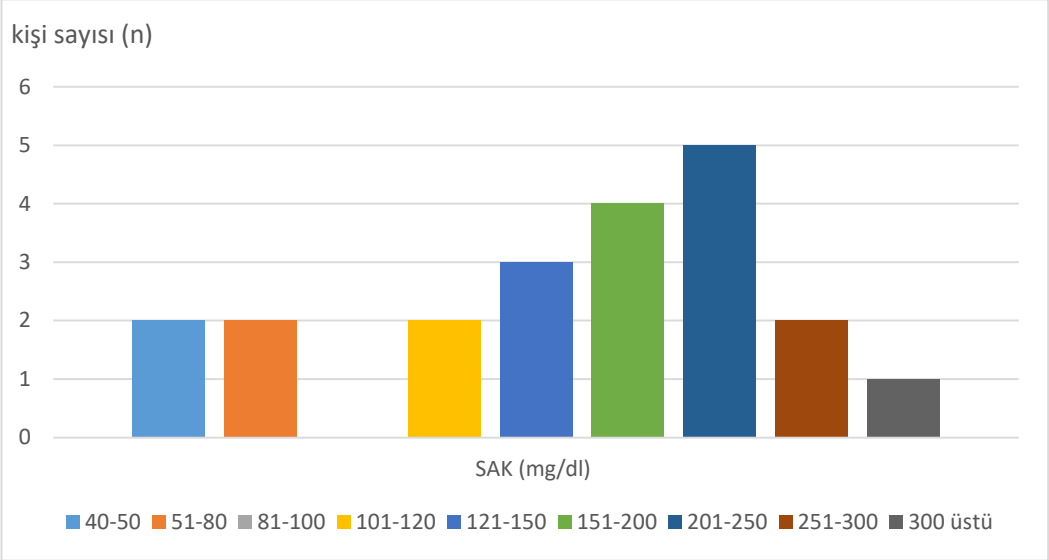
Yapılan tez çalışması planına göre ilk kısımda; aynı kişilere ait (N=21) plazma ve serum örneği temin edilerek, bu örneklerdeki etanol düzeyleri belirlenmiş ve matriks etkisinin olup olmadığı tespit edilmiştir. Siemens ADVIA 1650-1800 cihazı ile aynı kişilere ait serum ve plazma örneğinde etil alkol taraması yapılmıştır. Çizelge 3.1'de elde edilen pozitif serum ve plazma veriler verilmiştir.

Çizelge 3.1. Plazma ve serum örneklerindeki etanol düzeylerinin karşılaştırılması

No.	Cins	Yaş	Test	Serum Sonuç (mg/dL)	Plazma Sonuç (mg/dL)	Sonuç Tarihi	Ref. Range
SP1	E	18	EtOH	175,2	174,1	23.11.2016	0-100
SP2	E	20	EtOH	109,8	109,9	05.12.2016	0-100
SP3	E	25	EtOH	162,0	167,3	06.12.2016	0-100
SP4	E	26	EtOH	204,0	205,1	06.12.2016	0-100
SP5	E	50	EtOH	222,0	228,3	06.12.2016	0-100
SP6	E	37	EtOH	246,3	252,7	06.12.2016	0-100
SP7	E	32	EtOH	270,9	270,1	06.12.2016	0-100
SP8	E	28	EtOH	50,1	54,9	06.12.2016	0-100
SP9	E	29	EtOH	126,7	123,2	06.12.2016	0-100
SP10	E	29	EtOH	239,1	239,2	06.12.2016	0-100
SP11	E	26	EtOH	148,4	148,9	19.12.2016	0-100
SP12	E	28	EtOH	46,1	49,0	19.12.2016	0-100
SP13	E	22	EtOH	316,2	304,7	23.12.2016	0-100
SP14	E	33	EtOH	187,9	185,6	29.12.2016	0-100
SP15	E	30	EtOH	120,5	126,8	17.01.2017	0-100
SP16	E	25	EtOH	74,3	65,8	17.01.2017	0-100
SP17	E	51	EtOH	171,3	175,7	17.01.2017	0-100
SP18	E	49	EtOH	277,1	267,4	17.01.2017	0-100

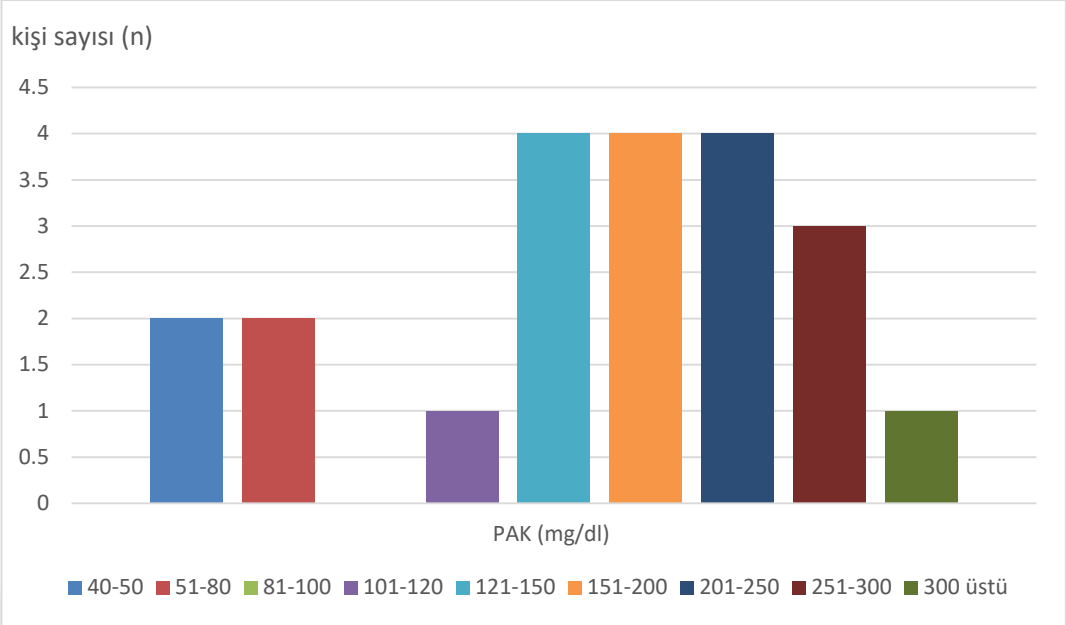
SP19	E	36	EtOH	48,4	48,2	17.02.2017	0-100
SP20	E	38	EtOH	114,9	120,5	17.04.2017	0-100
SP21	E	35	EtOH	211,9	215,6	17.04.2017	0-100
				167,76±78,95	168,24±77,57		

Olgular, cinsiyet dağılımına göre incelendiğinde; 21 tanesinin erkek (%100) olduğu saptanmıştır. Serum örneklerinde saptanan en yüksek etil alkol seviyesi 316,20 mg/dl; en düşük seviye ise 46,10 mg/dl olarak saptanmış olup, ölçülen alkol konsantrasyonu ortalaması 167,76±78,95'tir. 5 olgu ile serum etil alkol düzeyi en çok 201-250 mg/dl (%23,80) arasında tespit edilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Serum örneklerindeki etil alkol konsantrasyonları

Plazma örneklerinde saptanan en yüksek etil alkol seviyesi 304,70 mg/dl; en düşük seviye ise 48,20 mg/dl olarak saptanmış olup, ölçülen alkol konsantrasyonu ortalaması 168,24 ± 77,57'dir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2 Plazma örneklerindeki etil alkol konsantrasyonları

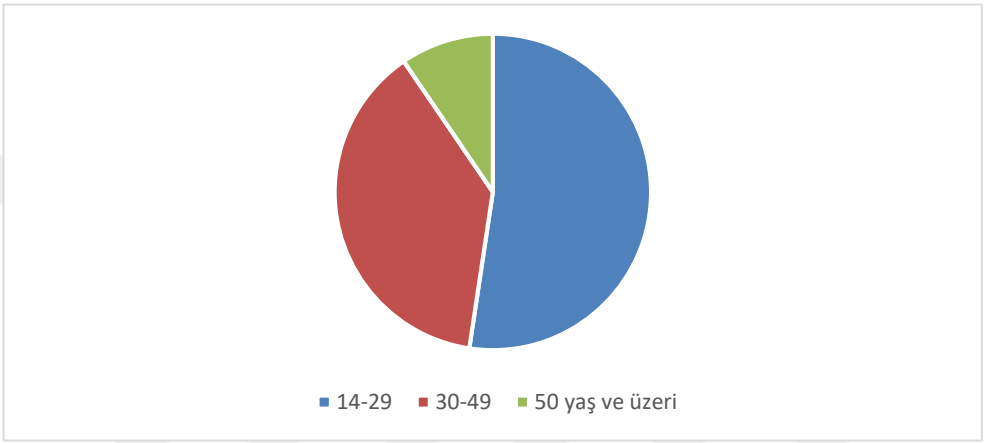
Serum ve plazma etanol düzeyleri ortalaması eşleştirilmiş iki örnek test ile eşleştirilmiş. İstatistiki verilere göre serum ve plazma arasında alınan alkol düzeyi bakımından [p= 0,687 (p>0,05)] anlamlı bir farklılık bulunamamıştır (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. Serum ve plazma sonuçlarının istatistik analizi

Serum Etanol	Plazma Etanol	p
171,30 (46,10-316,20)	174,10 (48,20-304,70)	0,687

3.2. Olguların Yaşlara Göre Kan Alkol Düzeyleri

Olgular yaş dağılımlarına göre 3 gruba ayrılmıştır (Şekil 3.3). Olguların yaş ortalaması 31,86±9,28 olarak tespit edilmiştir. En fazla olgu 11 olgu ile 14-29 yaş aralığında (% 52) görülmüştür; bunu % 38 ile 30-49 yaş aralığı izlemektedir. En az olgunun ise 2 olgu ile 50 yaş ve üzerinde (% 10) olduğu belirlenmiştir.



Şekil 3.3. Olguların yaşlara göre dağılımı

Olguların yaşlara göre serum ve plazma alkol düzeyleri aşağıda gösterilmiştir.

Çizelge 3.3. Olguların yaşlara göre serum alkol düzeyleri

YAŞ	SERUM ALKOL SEVİYESİ (mg/dL)									
	40-50	50-80	81-100	101-120	121-150	151-200	201-250	251-300	>300	TOPLAM
14-19	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1
20-24	-	-	-	1	-	-	-	-	1	2
25-29	2	1	-	-	2	1	2	-	-	8
30-34	-	-	-	1	-	1	-	1	-	3
35-39	1	-	-	1	-	-	2	-	-	4
40-44	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45-49	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1
50-54	-	-	-	-	-	1	1	-	-	2
55-59	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60 ve üstü	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TOPLAM	3	1	-	3	2	4	5	2	1	21

Çizelge 3.4. Olguların yaşlara göre plazma alkol düzeyleri

YAŞ	PLAZMA ALKOL SEVİYESİ (mg/dL)									
	40-50	50-80	81-100	101-120	121-150	151-200	201-250	251-300	>300	TOPLAM
14-19	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1
20-24	-	-	-	1	-	-	-	-	1	2
25-29	1	2	-	-	2	1	2	-	-	8
30-34	-	-	-	-	1	1	-	1	-	3
35-39	1	-	-	1	-	-	1	1	-	4
40-44	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45-49	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1
50-54	-	-	-	-	-	1	1	-	-	2
55-59	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60 ve üstü	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TOPLAM	2	2	-	2	3	4	4	3	1	21

3.3. Bekletilen Serum Örneklerinde Zamana Bağlı Olarak Etanol Düzeyindeki Değişimin Gözlenmesi

Serum örneklerindeki etanol düzeyinin zamana bağlı değişiminin gözlenmesi için serum örnekleri iki gruba ayrılmıştır ve iki farklı aşamada depolama koşullara göre gözlenmiştir.

3.3.1. Birinci Aşama

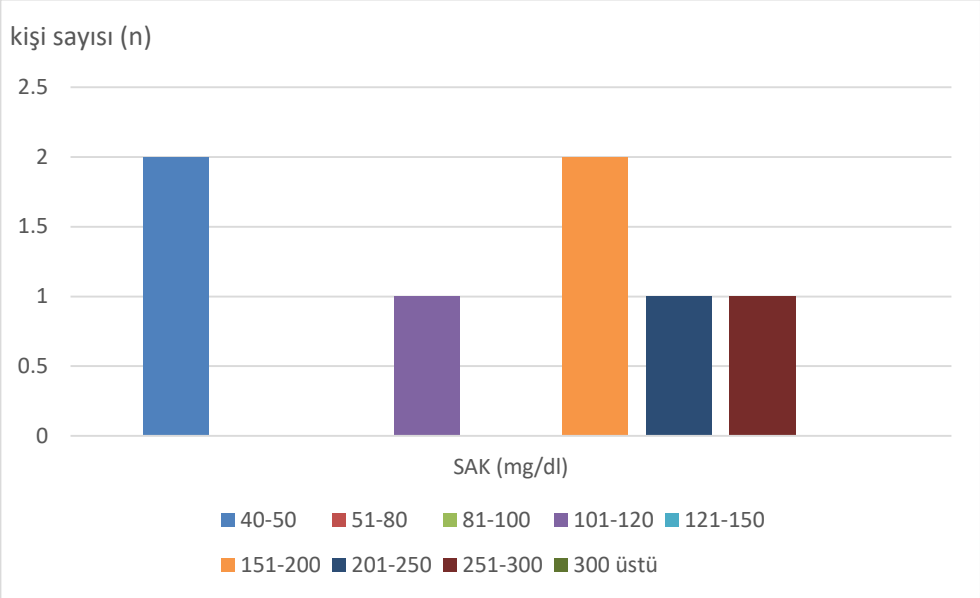
Gelen kan örnekleri alınıp çalışıldıktan sonra bekletilip 48 saat 4°C'de serum örneklerinde tekrar etanol düzeyine bakılmaktadır. 7 serum örneği temin edilerek, bu örneklere iki farklı parametre uygulanmıştır.

Etanol düzeyi; ilk parametrede örnekler temin edildiği anda, ikinci parametrede örnekler 4°C'de 48 saat depolandıktan sonra ölçülmüştür.

Çizelge 3.5. 4 ° C'de 48 saat bekletilen serum örneklerinde zamana bağlı olarak etanol düzeyindeki değişimin gözlenmesi sonuçları

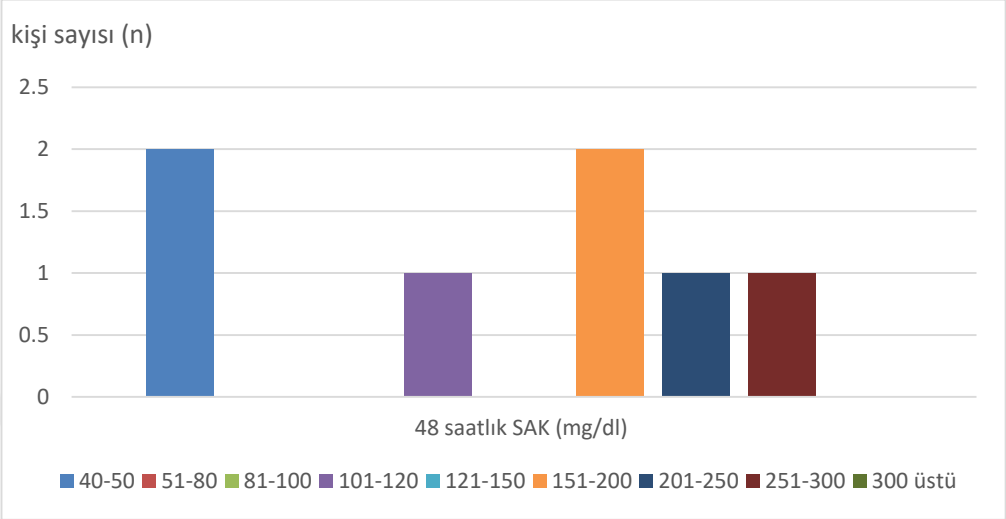
No.	Cins	Yaş	Test	Sonuç Tarihi	İlk Gelen Serum Sonuç (mg/dL)	48 Saat Sonra Serum Sonuç (mg/dL)	Ref.Range
S1	E	49	EtOH	17.01.2017	277,1	267,4	0-100
S2	E	39	EtOH	17.02.2017	181,5	175,6	0-100
S3	E	36	EtOH	17.02.2017	48,4	44,2	0-100
S4	K	14	EtOH	17.02.2017	45,7	40,4	0-100
S5	E	38	EtOH	17.04.2017	114,9	114,6	0-100
S6	E	35	EtOH	17.04.2017	211,9	210,7	0-100
S7	K	22	EtOH	17.05.2017	174,7	175,0	0-100
					150,60 ± 85,65	146,84 ± 84,79	

İlk gelen serum örneklerinde saptanan en yüksek etil alkol seviyesi 277,10 mg/dl; en düşük seviye ise 45,70 mg/dl olarak saptanmış olup, ölçülen alkol konsantrasyonu ortalaması 150,60 ± 85,65'dir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. İlk gelen serum örneklerinde etil alkol konsantrasyonları

48 saat bekletilen serum örneklerinde saptanan en yüksek etil alkol seviyesi 267,40 mg/dl; en düşük seviye ise 40,40 mg/dl olarak saptanmış olup, ölçülen alkol konsantrasyonu ortalaması 146,84 ± 84,79'dir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. 48 saat bekletilen serum örneklerinde etil alkol konsantrasyonları

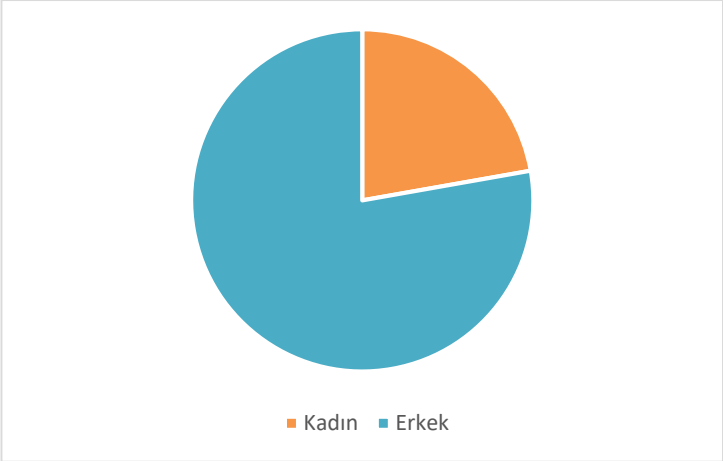
Andaki ve 48 saat sonucundaki serum etanol düzeylerin arasında farklılık olup olmadığını Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek test ile karşılaştırılmış ve serum etanol düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı duşuş gözlenmiştir [p= 0,034; (p<0,05)].

Çizelge 3.6. Bekletilen serum örneklerinde etanol düzeyindeki değişimin sonuçlarının istatistiksel analizi

İlk Gelen Serum Etanol	Serum Etanol 48 saat sonra 4 ° C'de	p
174,70 (45,70-277,10)	175,00 (40,40-267,40)	0,034

3.3.1.1. Olguların Cinsiyete Gore Dağılımı

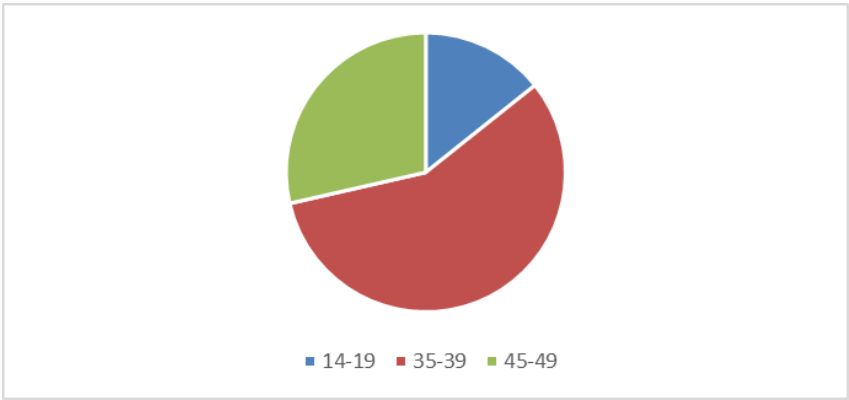
Olgular, cinsiyet dağılımına göre incelendiğinde; 2 tanesinin kadın (%28,6), 5 tanesinin erkek (%71,4) olduğu saptanmıştır (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Olguların cinsiyete göre dağılımı

3.3.1.2. Olguların Yaşlara Göre Kan Alkol Düzeyleri

Olgular yaş dağılımlarına göre 3 gruba ayrılmıştır (Şekil 3.7). Olguların yaş ortalaması 33,28 ± 11,62 olarak tespit edilmiştir. En fazla olgu 4 olgu ile 35-39 yaş aralığında (% 57) görülmüştür.



Şekil 3.7. Olguların yaşlara göre dağılımı

Çizelge 3.7. Olguların yaşlara göre ilk gelen serum alkol düzeyleri

YAŞ	İLK GELEN SERUM ALKOL SEVİYESİ (mg / dL)									
	40-50	50-80	81-100	101-120	121-150	151-200	201-250	251-300	>300	TOPLAM
14-19	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
20-24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25-29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30-34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35-39	1	-	-	1	-	1	1	-	-	4
40-44	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45-49	-	-	-	-	-	1	-	1	-	2
50-54	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
55-59	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60 ve üstü	-	-	-		-	-	-	-	-	-
TOPLAM	2	-	-	1	-	2	1	1	-	7

Çizelge 3.8. Olguların yaşlara göre 48 saatte serum alkol düzeyleri

YAŞ	48 saatlık SERUM ALKOL SEVİYESİ (mg/dL)									
	40-50	50-80	81-100	101-120	121-150	151-200	201-250	251-300	>300	TOPLAM
14-19	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
20-24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25-29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30-34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35-39	1	-	-	1	-	1	1	-	-	4
40-44	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45-49	-	-	-	-	-	1	-	1	-	2
50-54	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
55-59	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60 ve üstü	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TOPLAM	2	-	-	1	-	2	1	1	-	7

3.3.2. İkinci Aşama

İbni Sina merkez laboratuvarına etanol ölçümü istemiyle toplam 27 serum örneği çalışıldıktan sonra -80°C'de 3 ay saklanan serum örneklerinde tekrar etanol düzeylerine bakılmıştır.

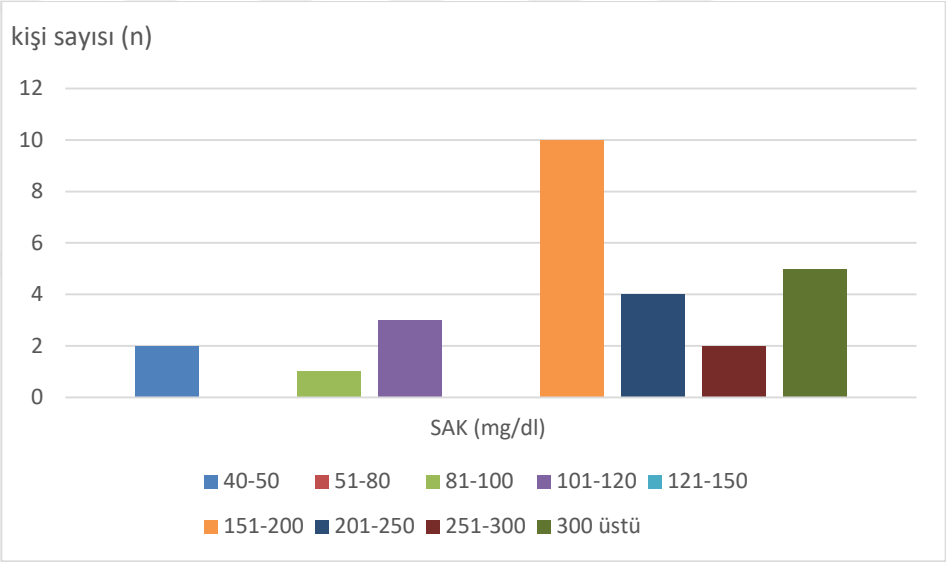
Bekletilen serum örneklerinde -80°C'de 3 ay depolandıktan sonra etanol düzeyindeki değişimin gözlenmesi sonuçları Çizelge 3.9'da verilmiştir.

Çizelge 3.9. -80 ° C'de 3 ay bekletilen serum örneklerinde zamana bağlı olarak etanol düzeyindeki değişimin sonuçları

No.	Cins	Yaş	Test	Sonuç Tarihi	İlk Gelen Serum Sonuç (mg/L)	3 ay Sonra Serum Sonuç (mg/L)	Ref.Range
S1	E	49	EtOH	17.01.2017	277,1	264,1	0-100
S2	E	39	EtOH	17.02.2017	181,5	166,0	0-100
S3	E	36	EtOH	17.02.2017	48,4	42,5	0-100
S4	K	14	EtOH	17.02.2017	45,7	42,9	0-100
S5	E	38	EtOH	17.04.2017	114,9	113,6	0-100
S6	E	35	EtOH	17.04.2017	211,9	201,1	0-100
S7	K	22	EtOH	05.05.2017	178,9	140,3	0-100
S8	K	20	EtOH	16.05.2017	174,1	89,9	0-100
S9	K	47	EtOH	17.05.2017	174,7	161,8	0-100
S10	E	59	EtOH	17.05.2017	259,8	107,8	0-100
S11	K	41	EtOH	17.05.2017	174,3	128,9	0-100
S12	E	25	EtOH	20.05.2017	190,9	144,8	0-100
S13	E	19	EtOH	23.05.2017	300,1	218,3	0-100
S14	E	59	EtOH	03.06.2017	185,0	134,9	0-100
S15	E	29	EtOH	05.06.2017	317,4	260,4	0-100
S16	E	28	EtOH	16.06.2017	218,4	147,9	0-100
S17	E	62	EtOH	17.06.2017	198,8	171,6	0-100
S18	E	54	EtOH	18.06.2017	545,1	482,1	0-100
S19	E	50	EtOH	26.06.2017	245,5	113,7	0-100
S20	E	51	EtOH	01.07.2017	211,1	141,8	0-100
S21	E	29	EtOH	05.07.2017	197.9	155,5	0-100
S22	E	41	EtOH	08.07.2017	332,3	260	0-100
S23	E	34	EtOH	09.07.2017	100,2	76,2	0-100

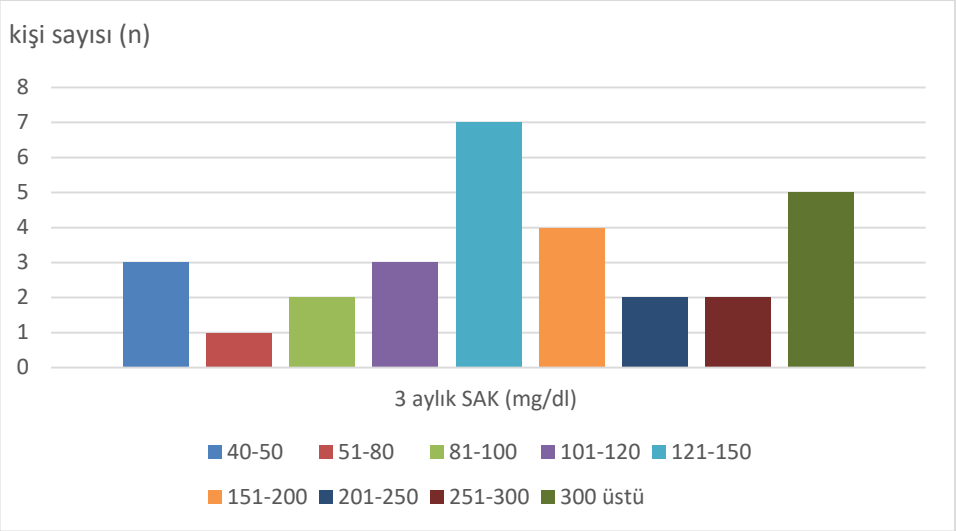
S24	E	24	EtOH	18.07.2017	181,9	136,8	0-100
S25	K	20	EtOH	18.07.2017	110,0	81,4	0-100
S26	K	31	EtOH	20.07.2017	378,3	319,2	0-100
S27	E	23	EtOH	22.07.2017	87,5	41,7	0-100
					208,95 ± 105,67	160,93 ± 95,10	

Andaki serum örneklerinde saptanan en yüksek etil alkol seviyesi 545,10 mg/dl; en düşük seviye ise 45,70 mg/dl olarak saptanmış olup, ölçülen alkol konsantrasyonu ortalaması 208,95 ± 105,67'dir. 10 olgu ile serum etil alkol düzeyi en çok 151-200 mg/dl (% 37,03) arasında tespit edilmiştir (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. İlk gelen serum örneklerinde etil alkol konsantrasyonları

3 ay bekletilen serum örneklerinde saptanan en yüksek etil alkol seviyesi 482,10 mg/dl; en düşük seviye ise 41,70 mg/dl olarak saptanmış olup, ölçülen alkol konsantrasyonu ortalaması 160,93 ± 95,10'dur. 7 olgu ile 3 aylık serum etil alkol düzeyi en çok 151-200 mg/dl (% 25,92) arasında tespit edilmiştir (Şekil 3.9).



Şekil 3.9. 3ay bekletilen serum örneklerinde etil alkol konsantrasyonları

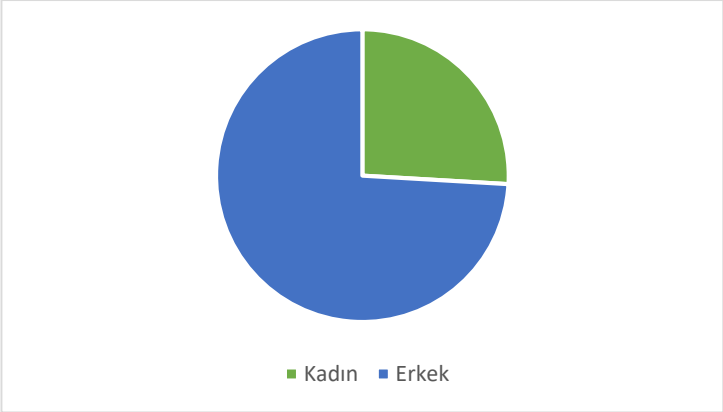
Andaki ve 3 ay sonucundaki serum etanol düzeylerin arasında farklılık olup olmadığını Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek test ile karşılaştırılmış ve serum etanol düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş gözlenmiştir [p= 0,000; (p<0,05)].

Çizelge 3.10. Bekletilen serum örneklerinde etanol düzeyindeki değişim sonuçlarının istatistiksel analizi

İlk Gelen Serum Etanol	Serum Etanol 3 ay sonra -80 ° C'de	p
190,90 (45,70-545,10)	141,80 (41,70-482,10)	0,000

3.3.2.1. Olguların Cinsiyete Göre Dağılımı

Olgular, cinsiyet dağılımına göre incelendiğinde; 7 tanesinin kadın (% 25,9), 20 tanesinin erkek (% 74,1) olduğu saptanmıştır (Şekil 3.10).



Şekil 3.10. Olguların cinsiyete göre dağılımı

Kadın ve erkekler arasında alınan alkol düzeyi bakımından [p=0,081; (p>0,05)] istatistiksel olarak herhangi bir anlamlılık bulunamamıştır.

Çizelge 3.11. Olguların cinsiyete göre ilk gelen serum alkol düzeyleri

Cinsiyet	İLK GELEN SERUM ALKOL SEVİYESİ (mg/dL)									
	40-50	50-80	81-100	101-120	121-150	151-200	201-250	251-300	>300	TOPLAM
Kadın	1	-	-	1	-	4	-	-	1	7
Erkek	1	-	2	1	-	6	5	1	4	20
TOPLAM	2	-	2	2	-	10	5	1	5	27

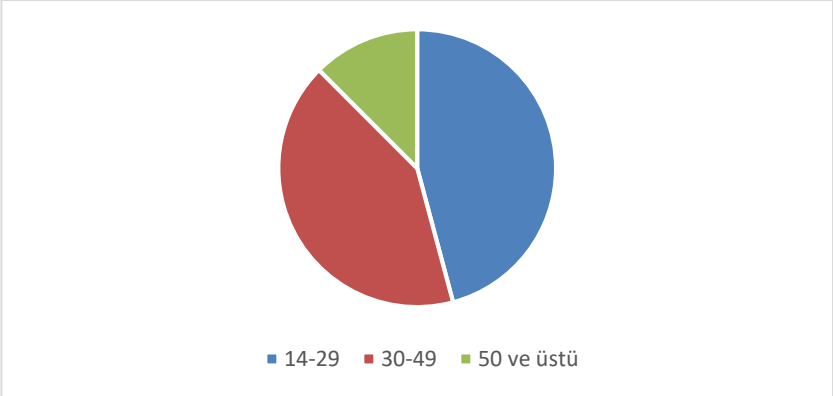
İstatistiki verilere göre kadın ve erkekler arasında 3 ay bekletilen serum alkol düzeyi bakımından [p= 0,370 (p>0,05)] anlamlı bir farklılık bulunamamıştır.

Çizelge 3.12. Olguların cinsiyete göre 3 ayın sonunda serum alkol düzeyleri

Cinsiyet	3 aylık SERUM ALKOL SEVİYESİ (mg/dL)									
	40-50	50-80	81-100	101-120	121-150	151-200	201-250	251-300	>300	TOPLAM
Kadın	1	1	1	-	2	1	-	-	1	7
Erkek	2	1	-	3	5	3	2	3	1	20
TOPLAM	3	2	1	3	7	4	2	3	2	27

3.3.2.2. Olguların Yaşlara Göre Dağılımı

Olgular yaş dağılımlarına göre 3 gruba ayrılmıştır. Olguların yaş ortalaması 36,25 ± 13,78 olarak tespit edilmiştir. En fazla olgu 11 olgu ile 14-29 yaş aralığında (% 41) görülmüştür; bunu % 37 ile 30-49 yaş aralığı izlemektedir. En az olgunun ise 6 olgu ile 50 yaş ve üzerinde (% 22) olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.11).



Şekil 3.11. Olguların yaşlara göre dağılımı

Çizelge 3.13. Olguların yaşlara göre ilk gelen serum alkol düzeyleri

YAŞ	İLK GELEN SERUM ALKOL SEVİYESİ (mg / dL)									
	40-50	50-80	81-100	101-120	121-150	151-200	201-250	251-300	>300	TOPLAM
14-19	1	-	-	-	-	-	-	-	1	2
20-24	-	-	1	1	-	3	-	-	-	5
25-29	-	-	-	-	-	2	1	-	1	4
30-34	-	-	-	1	-		-	-	1	2
35-39	1	-	-	1	-	1	1	-	-	4
40-44	-	-	-	-	-	1	-	-	1	2
45-49	-	-	-	-	-	1	-	1	-	2
50-54	-	-	-	-	-	-	2	-	1	3
55-59	-	-	-	-	-	1	-	1	-	2
60 ve üstü	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1
TOPLAM	2		1	3	-	10	4	2	5	27

Çizelge 3.14. Olguların yaşlara göre 3 ayın sonunda serum alkol düzeyleri

YAŞ	3 aylık SERUM ALKOL SEVİYESİ (mg/dL)									
	40-50	50-80	81-100	101-120	121-150	151-200	201-250	251-300	>300	TOPLAM
14-19	1	-	-	-	-	-	1	-	-	2
20-24	1	1	1	-	2	-	-	-	-	5
25-29	-	-	-	-	2	1	-	1	-	4
30-34	-	1	-	-	-	-	-	-	1	2
35-39	1	-	-	1	-	1	1	-	-	4
40-44	-	-	-	-	1	-	-	1	-	2
45-49	-	-	-	-	-	1	-	1	-	2
50-54	-	-	-	1	1	-	-	-	1	3
55-59	-	-	-	1	1	-	-	-	-	2
60 ve üstü	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1
TOPLAM	3	2	1	3	7	4	2	3	2	27

4. TARTIŞMA

Alkol yaygın olarak kullanılan bir maddedir ve adli toksikoloji laboratuvarlarında en fazla analiz edilen maddedir. Alkol kullanımı sonucu yapılan trafik kazaları diğer maddelere oranla daha fazladır. Avrupa'da yaralanmayla sonuçlanan kazalardaki sürücülerin % 90,5 ve hayatını kaybeden sürücülerin ise %87'si ≥0.5 g / L'lik kan alkol konsantrasyonu tespit edilmektedir ve İtalya'da bu kan alkol konsantrasyonu kabul edilebilir sınırdadır. Yaralı sürücülerdeki kan alkol konsantrasyonunun ortalama değeri 1,6 g / L, hayatını kaybeden sürücülerde ise 1,7 mg / dL idi (Stojiljkovic ve ark., 2016).

Trafik kazaları gibi adli olaylarda, kan etanol konsantrasyonları kimin suçlu olduğunu belirlerleyen faktördür. Dolayısıyla, kan etanol konsantrasyonlarının ölçülmünün doğru ve güvenilir olması gerekir (Kocak ve ark., 2015).

Testin doğruluğunu sağlamak için, standart bir analitik prosedüre sahip olmanın yanında, numunenin türü veya saklama koşulları gibi sonuçları etkileyebilecek preanalitik değişkenlerin bilinmesi önemlidir (Saracevic ve ark., 2014). Etanol ölçümü, antemortem veya postmortem çeşitli vücut sıvılarında gerçekleştirilebilir. Etanol konsantrosyanlarını analiz etmek için, klinik biyokimya laboratuvarlarında en sık kullanılan örnekler tam kan, plazma veya serum numuneleridir (Kocak ve ark., 2015). Uygun standart çalışma prosedürü, patolog ve toksikolog arasındaki işbirliği ile her zaman en iyi sonuçları vermektedir. Numunenin doğru seçilmesi, kullanılması ve depolanması her analizde çok önemlidir (Kaye, 1980).

Etanol, oldukça polar organik bir madde olduğundan dolayı emilimden sonra toplam vücut suyuyla (TBW) tamamen karışmaktadır. Etanol molekülleri, hücrelerarası ve hücre içi sıvılarla interstisyel boşluklara nüfuz eder, yağ ve kemiğe absorbe etmeden az miktarda plazma proteinlerine bağlanır. Buna göre, analiz edilen numunelerdeki farklı miktardaki sudan dolayı, plazma veya serum numunelerinde etanol konsantrasyonu tam kan numunelerinden daha yüksek olacaktır. Farklı biyolojik örneklerde etanol ve diğer ilaçların stabilitesi ile ilgili yapılan çalışmaların

literatürde bulunması oldukça zordur (Jones ve ark., 1992). Son 20 senedeki olan çalışmalar serum-tam kan veya plazma-tam kan alkol oranları karşılaşınca serum ve plazma etanol düzeylerinin tam kan etanol düzeylerinden daha yüksek olduğunu bildirmiştir.

Farklı tür türlerinde kan örnekleri toplandığında, plazma, serum veya tam kan etanol seviyelerin arasında farklılıklar göstermemiştir (Penetar ve ark., 2008). Plazma ve serum, klinik ve biyolojik araştırmalarda yaygın olarak kullanılan matrikslerdir. Ancak, farklı toplama prosedürleri ve koagülasyon basamakları, hem proteinlerin hem de metabolitlerin konsantrasyonlarını bu matriksler içinde etkileyebilir. Matriksin metabolit konsantrasyonu üzerindeki etkileri tam olarak karakterize edilememiştir.

Plazma ve serum, kan alındıktan sonra farklı biyokimyasal işlemler geçiren tam kandan üretilmiştir. Serum pıhtılaşmış kandan elde edilir. Koagülasyon esnasında kan hücreleri ve koagülasyon faktörleri ile birlikte oluşan fibrin pıhtıları, santrifüjle serumdan ayrılır. Bu işlem sırasında trombositler serum proteinleri (örneğin proinflamatuvar sitokinler) ve metabolitleri (örneğin sfingozin-1-fosfat) serbest bırakır. Plazma elde etmek için ise, kan alınan tüpe EDTA veya heparin gibi bir antikoagülan eklenir.

Metabolit konsantrasyonlarının genel olarak serumda daha yüksek olduğu ve bu fenomen kısmın hacminin yer değiştirme etkisi, (yani deproteinizasyon) proteinlerin hacim fraksiyonunu ortadan kaldırır ve kalan küçük molekül ağırlığını oluşturan maddeler daha küçük bir hacimde yoğunlaşır (Yu ve ark., 2011). Metabolomik araştırmalarda, plazma ve serumun benzer kompozisyonlara ve özelliklere sahip olduğu düşünülmektedir.

Serum ile plazma arasında önemli kimyasal farklılıklar vardır. Bu farkı sağlayan bileşikler karbonhidratları ve metabolitlerini, amino asitleri ve trikarboksilik asit ara ürünlerini içerir. Plazmanın veya serumun hazırlanması sırasında kanın inkübasyonu analitlerin düzeyi üzerinde belirgin etkilere sahiptir ve bunların çoğu enerji metabolizmasına aittir. Uzun süre inkübe edilen kan numunelerinden hazırlanan plazma veya serum analizleri doğruluğunu kaybedebilir. Kan numunelerinin inkübasyonu, serumdaki kosantrasyonunu plazmadan daha az etkiler. Sonuç olarak,

metabolomik çalışmalarda seçilecek numune olarak serum önerilmektedir (Liu ve ark., 2010).

Serum alkol içeriğinin ve tam kan alkol içeriğinin eşdeğer olmadığı düşünülmektedir. Etanol genellikle kan bileşenleri içindeki nispi su içeriğine oranla dağıtılmaktadır. Serum, tam kandan yaklaşık % 12 ila 18 daha fazla su içerdiğinden, serum (veya plazma) alkol seviyesinin tam kan örneğindekinden daha yüksek olması beklenir.

Winek ve Carfagna ve Rainey çalışmalarında, SAC / BAC oranının hematokritten bağımsız olduğu görülmüştür (Barnhill Jr ve ark., 2007). Literatürde bir serum örneğinden eşdeğer tam kan etanol seviyesinin tahmin edilmesi veya plazmada tayini literatürde birçok makale tarafından ele alınmıştır.

Bu çalışmada Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İbni Sina Merkez Laboratuvarı'na giriş yapılan kan örnekleri incelenerek çalışmanın yapılması hedeflenmiştir.

Çalışmamızda aynı kişilere ait plazma ve serum örneği temin edilerek, bu örneklerdeki etanol düzeyleri belirlenmiş ve matriks etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır. Ortalama plazma etil alkol düzeyi serum etil alkol düzeyi ile karşılaştırıldığında plazmadaki olan etanol konsantrasyonun %1,61 daha yüksek olduğu görülmüştür. İstatistiksel verilere göre serum ve plazma arasında alkol düzeyi bakımından anlamlı bir farklılık bulunamamaktadır. Sonuç olarak çalışmamızla plazma ve serum örneklerindeki etanol düzeylerinin karşılaştırıldığında önemli farklılıklar olmadığı saptanmıştır.

Biyolojik örneklerde alkolün stabilitesini araştırmak önemlidir (Ferrari ve ark., 2006).

Alkollü araç kullanımı yaygın bir durum olmasına rağmen, etanol analizini etkileyebilecek örnek toplama, taşıma ve depolama ile ilgili hala problemler bulunmaktadır. Analitik fazdan önce (yani toplama, taşıma ve depolama süresi), örneklerin kalite ve kabul edilebilirliğine bağlı olan analitik etanol sonuçlarının kalite ve güvenilirliğinde önemli bir role sahiptir. Ek olarak, bu preanalitik fazlar (uygun

kan etanol numunelerinin örneklenmesi, taşınması ve depolanması) adli olgularda kritiktir. Etanol kan testi için, mevcut standartlar Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) tarafından belirlenmiştir. Tibbi incelemeler, tedaviler ve adli vakaların raporlanması süreçleri yasal düzenlemelerde tanımlanmasına rağmen, sağlık hizmeti açısından, laboratuvar hizmetleri ve tıbbi-yasal sorumluluklar çerçevesi ülkemizde ve diğer birçok ülkede güncel yasal düzenlemelerde açık bir şekilde tanımlanmamıştır. Adli durumlara ait numunelerin, örnekleme, kabul, işleme ve depolama prosesleri standardize edilmemiştir, ve beklenmeyen ve şaşırtıcı sonuçlar hatalı yorumlara yol açabilir. Bu nedenle, her laboratuar, güvenilir işlemler için kendi tanımlamalarını ve standartlarını oluşturmalıdır (Kocak ve ark., 2015). Tıbbı açından laboratuarlar arasında kan etanol analizlerinin sonuçlarında farklılık olması uzun süredir tartışılmaktadır (Stojiljkovic ve ark., 2016). Yasal açıdan, etil alkol düzeyi ölçümü, özellikle uzun süre depolama esnasında çok önemlidir (Dubowski ve ark., 1997). Yargı yetkisi isteğiyle, depolama sonrasında ilk sonuçları onaylamak için yıllar sonra da örnekleri tekrar analiz etmek gerekebilir (Kocak ve ark., 2015; Shan ve ark., 2011). Etanol stabilitesi, tekrarlanan analizlerde, kalite kontrolünde ya da mahkemenin ilk analiz sonuçlarını doğrulamak için reanalizler talep ettiğinde çok önemlidir. Mahkemeye, analiz sonuçlarını ve numunelerdeki alkol değişikliklerini sunarken, veriler son derece güvenilir olmalıdır (Stojiljkovic ve ark., 2016). Güncel standartlar ve kanunlar "reanaliz örnekleri"nin depolanmasına ilişkin açık bilgiler vermemektedir (Kocak ve ark., 2015).

Toksikoloji laboratuvarında en büyük sorunlardan biri, adli vakaların numunelerinde etanol stabilitesidir (Dubowski ve ark., 1997; Stojiljkovic ve ark., 2016). Bu konuda birçok çalışma çoğunlukla çelişkili sonuçlar ile yayınlanmıştır ve çoğunlukla kısa vadeli depolama içindir (Dubowski ve ark., 1997). Etanol konsantrasyonları, numunelerin depolanması sırasında etanol kaybı veya endojen etanol oluşumunun bir sonucu olarak azalabilir veya artabilir. Etanol kayıpları büyük oranda buharlaşma, kimyasal oksidasyon ve mikrobiyal tüketimden kaynaklanırken, artışlar büyük oranda glukoz gibi substratların fermantasyon yoluyla etanole dönüşümüne bağlıdır (Kocak ve ark., 2015; Stojiljkovic ve ark., 2016). Etanol analizinin sonuçlarını etkileyen en önemli faktörlerden biri numunelerin uygun

koşullar altında depolanma süresi ve sıcaklığıdır. Depolama ve kan etanol reanalizi için standart bir protokol oluşturulmamıştır (Kocak ve ark., 2015).

Çalışmamızda ve daha önce yapılan çalışmalar farklı depolama sıcaklıklarında ve farklı depolama sürelerinde kanda etanol stabilitesi araştırıldı. Çalışmamızın diğer amacı; alkolün zamana zamana bağlı değişiminin gözlenmesi, istatistiksel analizlerle değerlendirerek, bilimsel sonuçlara ulaşmaktır. Laboratuvar içi kalite standartları açısından cihazların analitik performansları ve preanalitik süreçlerin değerlendirilmesi gerekmektedir. Bunun için her laboratuvar dönem dönem intraassay ve interassay olmak üzere numunelerini veya standart örneklerini farklı dönemlerde çalışarak kalite yönetimini sağlamaya çalışmaktadır. Antemortem serum örnekleri +4°C'de 48 saat ve eksi 80°C'de 3 ay bekletilerek alkol konsantrasyonları tayin edilmiştir. Bu amaçla gelen serum örneklerine koruyucu konmadan tekrar çalışılıp kontrol edilmiştir. Yaptığımız bu çalışma ve daha önce yapılan çalışmalar göstermektedir ki depolanan antemortem kan örneklerinde etanol konsantrasyonu zamanla azalmaktadır. 4°C'de 2 gün bekletilen serumlarda etanol seviyesi %2,49 inmiş. Eksi 80°C'de bekletilen 3 ay sonraki serum etil alkol seviyesi % 22,98 azalmıştır. 48 saat 4°C'de ve 3 ay eksi 80°C'de örenklerin alkol kaybının karşılaştırıldığında, 3 ay -80°C'de alkol kaybının daha yüksek olduğu görülmüştür. Çeşitli sıcaklık ve farklı saklama sürelerinde korunan serum numunelerindeki etil alkol konsantrasyonlarında oluşan değişiklikleri görmek için yapılan çalışmamız, serumdaki etanol stabilitesi için saklama sürelerinin sıcaklıktan daha önemli bir faktör olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda sodyum florür ve sodyum azidin gibi koruyucu maddeler kullanmadığımızdan, bu maddelerin serum etanol düzeyine etkisi bilinmemektedir. Sonuçlarımıza göre, etanol konsantrasyonlarındaki azalmalar Jones ve Kocak ve arkadaşların çalışmalarının sonuçlarına benzer şekilde depolama süresinin önemli bir faktör olduğunu göstermektedir (Jones, 2007; Kocak ve ark., 2015).

Fatma Emel Kocak ve arkadaşları farklı sürelerde depolama sonrası kan numunelerinde etanol konsantrasyonlarındaki değişiklikleri analiz etmiş ve sonuçlara göre, kan etanol düzeylerinin daha sonraki analizi için kan örneklerinin depolanmasına ilişkin standart bir protokol oluşturmaya çalışmışlar. Sonuçlara göre, etanol konsantrasyonları depolama süresiyle direk orantılı olarak düşmektedir. Etanol

düzeyleri enzimatik yöntem ile belirlendi. Bizim çalışmamızda da bu yöntem kullanılmıştır (Kocak ve ark., 2015).

1983 yılında Winek ve Paul oda sıcaklığında (22-29 °C) ve buzdolabında (0-3°C) kapalı tüplerde saklanan tam kan örneklerinde alkolün stabilitesini analiz etmiş ve deneyleri sırasında belirgin etanol konsantrasyonları hiç bir şekilde değişmedini saptamıştır. Oda sıcaklığında veya daha soğuk depolama koşullarında kandaki etanol stabilitesi, koruyucunun kullanılıp kullanılmamasından bağımsız olarak en az 2 hafta sabittir. Yüksek sıcaklıklarda ve / veya uzun sürelerle, depolanmış antemortem numunelerde kan etanol düzeyi azalmakadır. İlginçtir, yaptığımız çalışmamızda ve daha önce yapılan çalışmalar göstermektedir ki depolanan antemortem kan örneklerinde etanol konsantrasyonu zamanla azalmaktadır ve Winek ve Paul'un 1983'te bulduklarına aykırıdır. Sonuçlarda bu tür uyuşmazlıkların nedeni, bu çalışmalarda kullanılan numune sayısı veya etanol ölçümleri için kullanılan yöntemler olabilir. Winek ve Paul tarafından kullanılan gaz kromatografisi; çalışmamızda kullanılan alkol dehidrojenazı ölçüm temelli Siemens ADVIA 1650-1800 kimya sistemidir. Penetar, meslektaşları ile birlikte depolama koşullarının alkol konsantrasyonu üzerindeki etkisini incelenmişlerdi. Yaptıkları çalışmada serumda etanol konsantrasyonunu (katkı maddesi olmaksızın ve sodyum florid edilenen serum numunesi), plazma (EDTA veya potasyum oksalat / sodyum florid) ve tam kan örneklerini (katkı maddeleri olarak EDTA veya potasyum oksalat / sodyum florid ile) 10 gün boyunca oda sıcaklığında (25°C) ve buzdolabında (4°C) saklanmışlar ve Winek ve Paul'a benzer şekilde, hiçbir numune türü veya saklama koşulunun alkol konsantrasyonunu önemli ölçüde etkilemediği bulunmuşlardır (Saracevic ve ark., 2014; Penetar ve ark., 2008).

Daha önce yapılan araştırmalarda koruyucu, depolama sıcaklığı ve depolama süresi gibi faktörlerin kandaki alkol stabilitesini ve BAC tayinini etkilediği gösterilmiştir. Koruyucu madde, sıcaklık ve depolama günlerinin BAC seviyesi üzerindeki etkisini ispatlamak için yapılan diğer bir çalışmada; koruyucu ve koruyucu madde içermeyen ante ve post mortem örneklerden iki farklı saklama koşullarında (4-7°C ve oda sıcaklığı 24-26,9^{o}C) kan örneği incelenmiştir. Alınan kan örneklerinin 1., 7. ve 14. günlerinde analizler yapılmıştır. Kan örnekleri, standart n-propanol çözeltisi

ile seyreltilmiş ve gaz kromatografisi kullanılarak analiz edilmiştir. Analiz sonucunda, sıcaklık ve koruyucunun ante mortem ve post mortem kan örnekleri üzerinde hiçbir etkisi olmadığını ve kan alkol analizinin 21 gün içinde yapılabileceğini göstermiştir (Sinnathurai, 2013).

Numunelerin uzun süreli saklama esnasındaki etanol kaybı bir çok çalışmada gösterilmiştir (Chang ve Kollman, 1989; Kocak ve ark., 2015). Herhangi bir adli süreçte istenen numunenin tekrar analizi genellikle farklı enstrümantasyon kullanılarak farklı bir laboratuvarda gerçekleştirilir. Çoğu zaman, kan örneğini depolayan laboratuvarlar, uzun süreli depolama için kan numunelerini oda sıcaklığında saklanmaktadırlar (Shan ve ark., 2011).

Biyolojik örneklerde alkol düzeyinin azalması çeşitli mekanizmalar ile gerçekleşmektedir. Etanol uçucu bir madde olduğu için, kandaki alkol seviyesinin zaman içinde düşmesi beklenebilir (Ferrari ve ark., 2006).

Başka bir çalışmaya göre oda sıcaklığından daha yüksek sıcaklıklar (26,7-37,8°C) tam kanda, alkol düzeylerini 35 günde % 19 gibi düşürür (Penetar ve ark., 2008).

Çalışmamızda görülen etanol kayıpları, tüpte hava varlığından kaynaklanan etanolün kimyasal oksidasyonundan kaynaklanabilir. Saracevic ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre, glikoz süreci durdurulmamış tüplerde başlangıç konsantrasyonları ile yeniden analiz edilen konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı etanol azalışları gözlenirken, kapalı tüplerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi. Etanolün buharlaşması nedeniyle tüplerin kapalı olması gerekmektedir. İlk 2 saat içinde oda sıcaklığında açık tüplerde bekleyen kan örneklerindeki alkol konsantrasyonunda değişiklik gözlemlenmediğinden, bu numuneler kabul edilebilir. İki saatten fazla açık tüplerde bekleyen kan örneklerindeki alkol konsantrasyonu azaldığından bu tür örnekler alkol analizi için uygun değildir (Saracevic ve ark., 2014).

Kapalı, koruyucu içeren tüplerde, oksidasyon temel proses olarak tanımlanmıştır. Numune depolanma zamanı, sıcaklık, koruyucu, hava yüzdesi ve tüp önceden açılmış olup olmadığı, antemortem numunelerdeki etanol kaybının etkileyen

önemli faktörler olarak tanımlanmıştır. Kan etil alkol konsantrasyonlarında istatiksel olarak zamanla önemli bir kayıp göstermiştir. Kan etil alkol konsantrasyonlarında gözlemlenen azalma 0,005-0,234 g/dL arasında değişmektedir. Kan etanol kosantrasyonunun azalması, daha önce açılmış olan tüplerde oksidoglobin aracılığındaki etanol oksidasyonu daha fazla serbest oksijen kaynağı olması nedeniyle daha büyük olacaktır. Benzer şekilde, yüksek hava yüzdesine sahip olan tüplerde zamanla etanolün daha fazla düşüş göstermesi beklenir. Sonuç olarak Tiscione ve arkadaşlarının yayınlanan çalışmasının sonuçları gösterdi ki: (i) alkolle negatif korunmuş olan antemortem kan örnekleri, kan hacmine bakılmaksızın veya numune tüpünün daha önce açılıp açılmadığına bakılmaksızın oda sıcaklığında uzun süreli saklamada negatif kaldı; (ii) uzun süreli depolama kandaki etanol konsantrasyonunu düşürdü ve tüpler daha önce açılmışsa veya yarısından daha az dolu olması halinde bu azalma daha büyüktü; (iii) BAC kaybı orijinal konsantrasyondan bağımsızdı (iv) daha önce açılmayan ve yarısından fazlası dolmuş olan tüpler, daha iyi kan etil alkol konsantrasyonların stabilitesi göstermiştir. Uzun süre oda sıcaklığında depolandıktan sonra kan numuneleri yeniden analiz edildiğinde, sonuçlar bu koşulara dikkate alınarak yorumlanmalıdır (Tiscione ve ark., 2015).

Etanol için pozitif olan örneklerin hepsi, kan örneği hacmine ve tüpün daha önce açılıp açılmadığına bağlı olarak gözlemlenen kayıp açısından istatiksel olarak önemli bir farklılık ile zamanla BAC'de bir azalma gösterdi. BAC'deki azalma 0,005-0,234 g/dL arasında değişiyordu. Daha önce açılmayan ve yarısından fazlası dolmuş olan tüpler, bu tüplerin % 89'unda 0,01 ile 0,05 g/dL arasında bir BAC kaybı sergileyen, daha iyi BAC stabilitesi gösterdi.

Koruyucu olarak sodyum azid içeren kan örnekleri 1 yıllık dönemde hiçbir alkol kaybı göstermemektedir. % 1,0 (w / v) sodyum florid ve antikoagülan içeren, azid içermeyen kan örnekleri, zamanla az miktarda alkol kaybı göstermektedir; bir yıl sonra toplam kan etanol azalması orijinal alkol konsantrasyonlarının % 5'inden daha azdır. Baştaki alkol konsantrasyonu yaklaşık 40 mg/dL de, azid içermeyen kan numunelerinin depolanması sırasında bir ay sonra 4 ° C'de değişmemektedir. Bununla birlikte kan alkol analizi için sodyum azid'in kan numunelerine eklenmesi gereksiz

olmakla birlikte, alınan örneklerin uygun şartlarda saklanması ve bekletilmeden işleme konulması kandaki etanol düzeyinin azalmasını engellemektedir (Dubowski, 1997).

Kandaki etanol düzeyi, koruyucu, örn., sodyum florür yoksa, biyokimyasal bozulma nedeniyle azalabilir. Numune alınırken numunenin maya veya bakteri tarafından kontaminasyon nedeniyle mikropların etkisiyle etanolun üretilmesine ya da azalmasına neden olabilir. Bu çalışmada, kan alkol konsantrasyonun azalması saklanma süresiyle orantılıdır, yanı saklanma süresi artıkça kan alkol konsantrasyonu azalır (Stojiljkovic ve ark., 2016).

Vural ve Saygı yaptığı çalışmaya göre, postmortem kan alkolünün korunması için +4°C'de sodyum azidin sodyum florürden daha etkili olduğu görülmüştür. Bu çalışma, kan alkol düzeyine sodyum florür ve sodyum azidin koruyucu etkisini tanımlamaktadır.

Ferrari ve arkadaşlar sıcaklık, tüpdeki hava yüzdesi (% CA), kan içindeki etanol konsantrasyonu ve ölüm sonrası geçen süre, örnek korumada dört önemli parametre olarak incelenmiştir. Bu husus, özellikle gelişmekte olan ülkelerde, nadiren kullanılan sodyum florür gibi koruyucu maddelerin kan örneklerinin toplanması ve korunmasında eksiklik olduğundan temel bir öneme sahiptir. Diğer araştırmacılar açısından, eğer numuneler uygun bir şekilde toplanıp uygun şekilde kapatılmış kaplara konulduysa, kan etanol düzeyi depolama sırasında belirgin bir şekilde değişmemektedir. Bu çalışmada yalnızca post-mortem her hangi bir koruyucu içermeyen numunelerdeki alkol kaybı vakaları incelenmiştir. Kan örneklerinde, zamana, % CA ve saklama sıcaklığına bağlı etanol düzeyi bakılmıştır. Kan içinde mikrobiyal aktiviteden kaynaklanan alkol oluşumu dikkate alınmamıştır.

Kandaki etanol stabilitesi ve tüpteki hava içeriği arasında güçlü bir bağımlılık gözlemlendi ve bu bağımlılığın kandaki etanol stabilitesi ve sıcaklık arasında daha güçlü olduğu bulundu. Numunelere koruma maddesi eklenmemiştir. Kandaki etanol düzeyinin tayini, gaz kromatografisi ile ve head-space alev iyonizasyon detektörü kullanılarak yapıldı.

En iyi saklama koşulları: 0% CA ve 10˚C'de saklama, 15 gün sonra % 0,01'lik etanol bozulumu elde edildi. Tüpün kapağı hava almayacak şekilde sıkı kapalı tutulduğunda 10°C'de 2 haftaya kadar dayanıklıdır (Ferrari ve ark., 2006).

Antemortem kan numunelerindeki sodyum florür gibi koruma maddelerinin kullanımı, özellikle numuneler steril şırınga ile alındıysa ve düşük sıcaklıkta muhafaza edildiyse sonuçları iyileştirmiyor. Bu koşullar altında antemortem örnekleri etanol düzeyinde önemli bir değişiklik olmadan 2 hafta sonra bile analiz edilebilir (Winek ve Jones, 1989). Farklı sıcaklıklarda saklanan tam kan ve serum örnekleri için yapılan diğer çalışmalarda, daha yüksek sıcaklıklarda birkaç hafta bekletilen örnekler özellikle tam kan numunelerinde ciddi etanol azalması gösterdiler (Winek ve ark. 1996).

1-10 günü içinde, hatta oda sıcaklığında saklandığında koruyucu maddelerinin etanol analizlerinde önemli olmadığı gösterilmiştir (Penetar ve ark., 2008).

Brown ve ark. kan etanol stabilitesinin önemli faktörlerin sıcaklık, florür konsantrasyonu ve saklama süresi olduğunu saptamışlardır. Kan örneklerinin saklandığı polipropilen kapların %5,6'sında difüzyonla alkol kaybı olduğunu belirmişlerdir. Oda sıcaklığında (22°C), kan ve sulu solüsyonlardaki alkol düzeyindeki azalmasını zamanla ilişkisi üzerine yaptıkları çalışmada sulu solüsyonlarda alkol kaybı önemsizken, kan numunesindeki alkol azalmasının zamanla doğru orantılı olarak arttığı gözlenmiştir . Bu çalışma sonunda, 5 gün sonra kan alkol oksidasyon kaybı %13 mg olarak bulunmuştur. Alkol asetaldehite oksitlenerek kaybolabilir yorumlanmaktadır. Bununla birlikte, çalışmamızdaki etanol kayıpları, Brown'un yaptığı çalışmada bildirildiği gibi, polipropilen tüplerinden etanolün difüzyonuna bağlı olarak da ortaya çıkabilir (Brown ve ark., 1973).

Cam ve plastik tüplerde saklayan tam kandaki etanol konsantrasyonları, 4°C de 12 ay boyunca kademeli olarak azalmaktadır. Etanolün net kaybı baştaki etanol konsantrasyonuna bağlı olmadığı gösterilmiştir. Ortalama düşüş, 12 aylık depolandıktan sonra ~ 0,11 g / L idi. En düşük etanol başlangıç konsantrasyonuna sahip olan kan örneklerindeki etanol yüzdesel kayıplarının daha fazla olduğu gosterilmiştir.

Depolanma esnasında kandaki etanolün azalma oranı, cam veya plastik tüplerde depolanan örnekler için aynıdır (Jones ve Ericsson, 2016).

Alkol tespit edilmeden antemortem kan örnekleri saklama sırasında sıcaklıktan bağımsız olarak negatif kaldı; soğutma altında, oda sıcaklığında veya oda sıcaklığının üzerindeki uzun süreli depolama, özellikle tüpler önceden açılmışsa, BAC'yi düşürmüştür; bu, uzun süreli depolamadan sonra kan alkolünün yeniden analizinin, o zaman gerçek değerlerden daha düşük BAC sonuçlarına neden olacağını belirtir (Shan ve ark., 2011).

Alkolün örneklemden sonra kan içinde üretilebileceği bilinmektedir. Üretilen etanol miktarı, mevcut mikroorganizmaların türüne, substratlara, depolamanın sıcaklığı ve zamanına ve örneklere ilave edilen koruyucu maddelerin varlığına bağlıdır. Glikoliz, etanol üretiminin temel prosesi olarak düşünülür, ancak bazı diğer metabolik prosesler de mümkündür - glukoz, laktat, riboz ve amino asitler gibi substratların kullanımıdır. Etanol, genelde alkollü içeceklerle tüketilir, ancak vücuttaki metabolik reaksiyonlar sırasında da üretilebilir. "Endojen alkol" terimi, farklı metabolik yollarla vücudun spontan etanol üretimine dayanmaktadır. Bu değerler son derece düşük olmasına rağmen endojen alkolün kandaki etanolün ölçüm değerlerini değiştirme ihtimali vardır. Bu çalışmada oda sıcaklığında 48 saat bekletilen, koruyucu olmayan örneklerde alkol üretimi şaşırtıcı şekilde yoksunluk gösterdi. Belirtilen koşulların in vitro etanol oluşumu için öncelikle substrat (glukoz) ve uygun mikrobik floranın eksikliği (kontrol, çoğalma) nedeniyle yetersiz olduğu düşünülmektedir. Eski bir çalışmada koruyucu içermeyen postmortem kan örneklerinde 20˚C'de 48 saat süreyle ilk ölçümlerle karşılaştırıldığında 0,1g / kg'lık BAC'de bir artış göstermektedir. Yüksek sıcaklıklarda koruyucunun ve uzun süreli depolamanın olması, antemortem kan örneklerinde alkol üretimi için kesin olarak yeterli değildir. Ayrıca postmortem örneklerde ölüm anındaki glisemi bilinmemektedir ve bakteri kontaminasyonu olasılığı daha yüksektir (Petkovic ve ark., 2008).

Bir çalışmada ölüm sonrasındaki alınan örneklerde bakteri etanol üretimi nedeniyle etanol düzeyinde artış bildirildi. Aynı çalışmada postmortem numunelerde etanol üreten en az 50 bakteri, maya ve mantarın türü bildirildi. Ölüm sonrası dönemde alınan kan örnekleri için koruyucu olarak en çok kullanılan madde sodyum florürdür.

Bir çok çalışmada sodyum florürün postmortem alkol üretiminin önlenmesinde gerçekten çok etkin bir koruyucu olduğu ortaya koyuldu.

En az iki yayınlanmış çalışma yüksek konsantrasyon maya *Candida albicans* içeren kan örneklerinin saklanmasında sodyum florürün çok uygun bir koruyucu olmadığını belirtmiş. Bu mayanın oldukça önemli bir alkol üretici olduğu gösterildi. Ek olarak, post-mortem üretilen n-propanol, butanol, feniletanol gibi birçok uçucu bileşik vardır. Postmortem alkol oluşumda vakaların çoğunda tespit edilen konsantrasyon nadiren 0,3 g / L'den daha yüksekti (Ferrari ve ark., 2006).

Çeşitli mikroorganizmalarla kontamine olmuş postmortem kan örneğinin artan etanol konsantrasyonları belirmiştir. Numuneden çeşitli organizmalar izole edildi ve hepsinin temiz kanına edildiğinde etanol üretebildiği bulundu. Sodyum florürün *Candida albicans* tarafından etanol üretimine karşı etkisiz olduğunu belirlendi. Sıcaklığın *Candida albicans* ile kontamine olan kan numunelerinde etanol oluşumuna etkisi altı ay boyunca izlendi. Fermantasyonun sıcaklığa bağlı olduğu ve soğutmanın etanol oluşumunun engellenmesinde en etkili yöntem olduğu bulunmuştur. Koruyucu içeren 37 ° C'de 69 saat süreyle depolanan numunelerde hiçbir alkol oluşumu tespit edilmedi, *C. albicans* ile kontamine edilen ve beş günden fazla oda sıcaklığında saklanan numuneler önemli alkol oluşumu gösterdi. Sodyum fluorür ile kanın korunması, numuneler oda sıcaklığında saklandığında iki ay boyunca alkol kaybını engellemede etkili gösterilmiştir (Blume ve Lakatua, 1973).

Meyer ve arkadaşlar daha uzun süre depolanma esnasında kan numunelerinin buzdolabında dondurulmasının etanol kaybını önlemede en etkili yöntem olduğunu bulmuşlardır. Tüm numunelerin oda sıcaklığında depolanma esnasında, 5. Güne kadar önemsiz ya da hiç etanol oluşumu yanıtlanmadı ve bu koşullar altında bile, aşılanmamış ve flüorür içeren numuneler, 35 günlük süre boyunca alkol oluştumu göstermedi. Daha az sıcaklıktaki depolamada, ilk 35 gün boyunca herhangi bir fermantasyon kanıtı yok ve 6 ay sonra az miktarda alkol konsantrasyonu bulundu. Fermantasyon, doğrudan aşılama veya *C. albicans* ile kontaminasyon ile kolaylıkla ilerliyormuş gibi görünüyor. Bu koşullar altında etanol oluşumu sodyum florür tarafından engellenmez. Bu çalışmada, *C. albicans'a* inoküle edildiğinde dahi, koruyucu madde olarak 10 mg / mL kan sodyum fluorürü kullanıldığında, 69 saat

boyunca 37 ° C'de alkol oluşumu gerçekleşmediğini gösterdi (Chang ve Kollman, 1989).

Çalışmamızda +4°C 48 saat bekletilen, koruyucu olmayan serum örneklerinden birinde etanol üretiminin olduğunu görülmektedir. Bu örnekte etanol konsantrasyonunun % 0,17 artışı görülmüştür. Çalışmamızda -80° C'de 3 ay bekletilen, koruyucu olmayan serum örneğinde alkol üretiminin gerçekleşmediği gözlemlenmiştir. Başka bir ifadeyle serum örneklerndeki etanol üretiminde sıcaklık derecesinin büyük rol oynadığı tespit edilmiştir.

Bu çalışmada cinsiyete ve yaşa göre sınıflandırılan olgular, sınıflandırmalar dahilinde yorumlanmıştır. Çalışmamızda erkek/kadın oranı 5/1 olarak tespit edilmiş olup, erkekler 44 olgu ile %84'lük dilimi oluştururken, kadınlar ise 9 olgu ile %16'lık dilimle sınırlı kalmıştır. Dünya çapında yapılan araştırmalara göre de bu oranlar yaklaşık değerler taşımaktadır. Dünya Sağlık Örgütünün 2014 yılında yayınladığı raporunda göre alkol kullanımı erkeklerde daha sık rastlanmaktadır (WHO, 2014). Çoğu araştırmalada erkeklerin kadınlardan daha sık ve daha büyük miktarlarda alkollü içeckleri içenleri olduğu gözlemlenmiştir (Wilsnack ve ark., 2005). Bu, insan sosyal davranışında evrensel bir cinsiyet farkı gibi görünüyor. Ancak, bu cinsiyet farklılıklarının büyüklüğü yaş, sosyoekonomik gruba göre, yaşayan bölgeye ve/veya kültüre göre değişmektedir.

Yaşa göre yapılan sınıflandırmada araştırması yapılan toplam 44 vakadan 22'si 25-39 yaş aralığında tespit edilmiştir. Çalışmamızda %50 oranla en fazla çoğunluğu bu yaş gurubu oluşturmaktadır. Bunun temel nedeni daha genç olan bu kesimin gerek ekonomik gerekse sosyal açıdan alkol konusunda yeterli bilgi birikimine sahip olmamalarıyla açıklanabilir. Bu nedenle diğer çalışmalarda da vurgulandığı gibi bu yaş gruplarına hatta daha alt yaş gruplarına alkol ve uyuşturucu madde bağımlılığı ile ilgili sağlıklı bir bilinç oluşturmak için daha ciddi çalışmaların yapılması gerektiği bir kez daha bu çalışmayla ispatlanmıştır. Çalışmamızda %11 oranla 50-54 yaş aralığı bu çalışmada ikinci sırada yer almaktadır. Cinsiyet ve kültür yaşının içki alışkanlıklarıyla ilişkisi göre çok fazla etkilenmektedir. Çoğu çalışmalarda ağır dönemsel içme daha genç yaşlarda sık görülmektedir (IARC Monographs Volume 96, 2010). Gelişmiş ekonomilerde, sosyoekonomik durumu daha yüksek olan insanlar sosyo-ekonomik

statüye sahip olmayan insanlara göre içme sıklığı daha yüksek görülmektedir. Ağır içme ve genel olarak ağır episodik içme yüksek sosyoekonomik durumuna sahip kadınlarda daha sık görülmektedir (Bloomfield ve ark., 2006).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Alkol alımının tespiti, halen adli tıp alanında önemini koruyan konulardan biridir. Adli vakalarda en büyük sorunlardan biri alınan kan örneklerinin etanol stabilitesidir. Sonuç olarak çalışmalarımızda elde ettiğimiz veriler kapsamında bilimsel literatür ile uyumlu ve istatistiki verilere dayanılarak sonuçlar elde edilmiştir.
- Alkol analizi için serum yerine plazma kullanımı önemli bir parameter değildir. Çalışmamızda alkol analizi için kullanılan biyolojik sıvılardan serum ile plazması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır. Plazma ve serum örneklerinde alkol kullanımının belirlenmesinde etanol düzeylerinin etanol sonucunda matriks etkisinin olmadığını tespit etmektedir.
- Yaptığımız çalışma ve daha önce yapılan çalışmalar uyumlu ve göstermektedir ki depolanan antemortem kan örneklerinde etanol konsantrasyonu zamanla azalmaktadır. 48 saat 4°C'de ve 3ay -80°C'de örneklerin alkol kaybı karşılaştırıldığında, 3ay -80°C'de alkol kaybının daha yüksek olduğu görülmüştür. Çeşitli sıcaklık ve farklı saklama sürelerinde korunan serum numunelerindeki etil alkol konsantrasyonlarında oluşan değişiklikleri görmek için yapılan çalışmamız, serumdaki etanol stabilitesi için saklama sürelerinin sıcaklıktan daha önemli bir faktör olduğunu göstermektedir .
- Bununla birlikte, elde edilen serum alkol reanaliz sonuçları yorumlanırken dikkat edilmesi ve mutlaka hesaba katılması gereken hususların başında depolanma süresi, sıcaklık, koruyucu, hava yüzdesi ve numunenin mikroorganizma kontaminasyonu.
- Farklı depolama şartları altında kan numunelerinde etanol stabilitesi ciddi çalışmalarla araştırılmalıdır.
- Antemortem ve postmortem kan alkolünün doğruluğunu sağlamak için kan örneğinin alınması, depolama ve korunma standart prosedürü hakkında devletin yaptırım organlarında ciddi projelere yer verilmesi önerilmektedir.
- Genel olarak, çalışmamız ile önceden yapılmış çalışmaların arasında gözlemlenen farklılıklar büyük olasılıkla etanol analizinde kullanılan farklı yöntemler, farklı numunelerin sayısı ve her bir laboratuarın çalışma şartlarındaki farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Bu nedenle, her laboratuvar

adli olgularda güvenilir etanol için kendi çalışma akış şartları ve kriterlerini belirlemelidir.

ÖZET

Bekletilen kan örneklerinde zamana bağlı olarak etanol düzeyindeki değişimin gözlenmesi: plazma ve serum örneklerinde fark var mıdır?

Kanda etanol düzeyi ölçümleri adli olaylarda önemlidir. Adli olaylarda, kan alkol düzeyi ölçümü doğru ve güvenli olmalıdır. Etil alkolün toksikolojik ve Adli Tıp amaçlı tayini adli olayların aydınlatılmasında önemlidir. Kandaki etanol stabilitesini etkileyen en önemli faktörler sıcaklık ve depolama süresidir. Bekletilen kan örneklerinde etanol düzeyi zamana bağlı azalma ya da artma olması adli süreci tamamen değiştirebileceğinden bu konunun aydınlatılması gerekmektedir.

Bu çalışmada, örneklerin 4°C'de 48 saat depolanması sırasında serum-etanol konsantrasyonundaki değişiklikleri incelenmektedir. Daha sonra ayrı grup serum örnekleri -80° C'de üç ay saklandıktan sonra analiz ettik. Aynı zamanda, aynı kişilere ait plazma ve serum örneklerindeki etanol düzeylerinin etanol sonucunda matriks etkisinin olup olmadığını tespit etmeyi amaçladık. Literatürde bir serum örneğinden eşdeğer tam kan etanol seviyesinin tahmin edilmesi veya plazma tayini birçok makale tarafından ele alınmıştır.

Bu çalışmada kullanılan cihaz Siemens ADVIA 1650-1800 kimya sisteminde yürütülen bir fotometrik enzim aktivitesi ölçüm metodunu özetlemektedir. Aynı yöntem ile yapılmış böyle bir çalışmaya literatürde rastlanmadı. Literatürde bu konuyla ilgili yapılan çalışmalarda LC-MS sistemleri kullanılmış ancak rutinde daha çok etanol ölçümünde spektrofotometrik yöntem kullanılmakatadır ve biz bu yüzden olası etanol düzeyi değişimlerini bu yöntemle bakmaktadır. Spektrofotometrik yöntemle bir tek Roche marka sistemin bir çalışması mevcut olup ayrıca sadece plazma örnekleri çalışılmış olup serum örnekleri çalışılmamıştır; İbn-i Sina Merkez Laboratuarı ve Sağlık Bakanlığı Hastanelerinin bir kısmında kullanılmakta olan Siemens marka sistemlere dair bir çalışma bulunmamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Etil Alkol, Kan Etil Alkol Analizi, Plazma, Saklama Koşulları, Serum, Stabilite

SUMMARY

Observatıon of time depended changes in ethanol levels in stored blood specimens: is there a difference in plasma and serum samples?

BAC analysis is often performed in forensic investigations. Measurement of BAC must be accurate and reliable. The accurate determination of ethanol in human blood samples has a critical importance for forensic and toxicological reports. The most important factors affecting blood ethanol stability are temperature and storage time. Storing blood samples under different conditions can cause degradation or formation of alcohol in blood samples and future studies should contemplate both of these aspect in order to better understand the effect storage conditions as fundamental importance for forensic cases.

In this study, during storage of the serum samples at 4°C for 48 hours ethanol concentration are examinated. We analyzed different group of serum samples after a 3 months storage at -80°C. At the same time, we determinated whether ethanol levels in plasma and serum samples of the same subjects, are effected by relevated matrix. Estimating the equivalent whole blood ethanol level from a serum or plasma determination has been addressed by numerous articles in both the clinical and forensic literature.

In this study we use SIEMENS ADVIA 1650-1800 Clinical Chemistry System as a specific photometric determination of ethyl alcohol based on an enzymatic reaction a photometric assay. Other studies based on impact of different storage conditions and periods on ethanol levels in blood samples didn't used a photometric assay. BAC analyses are mostly performed utilizing a LC-MS system, but in routine practice the most frequent method used by clinical biochemistry laboratories is spectrophotometric assay. In the present study we aimed to analyze changes in ethanol concentrations in serum samples in a different storage conditions for the different storage periods. Investigating the literature, only one study included mesurement of ethanol concentrations with spectrophotometric assay but using analyzer from Roche Diagnostics GmbH and analyzing plasma not serum samples. In the time of this study in İbn-i Sina Central Laboratory and all Hospıtals conected with Turkish Ministry of Health mostly used SIEMENS ADVIA 1650-1800 Clinical Chemistry System as a specific photometric determination of ethyl alcohol.

Keywords: Blood Ethanol Analysis, Ethyl alcohol, Plasma, Serum, Stability, Storage Conditions

KAYNAKLAR

ALBA-LOIS L, SEGAL-KISCHINEVZKY C (2010). Beer & Wine Makers. *Nature Education* **3** (9):17

ANDERSEN BD, WISE BL (1986). Textbook of clinical chemistry. Philadelphia: WB Saunders Company. 197-208.

ANDERSON SG, ALLENDER W, MOYNHAM AF, PERL J, JENNINGS SR, STARMER GA, LEWIS K, BROCKLESBY C (2004). The Effects of Storage on the Accuracy of Blood Alcohol Readings. Erişim adresi: [http://www.icadtsinternational.com/files/documents/2004_163.pdf]. Erişim tarihi: 16/02/2017.

AYKAÇ M (1993). Adli Tıp. Nobel Tıp Kitabevleri. 325-330.

BAI FW, ANDERSON WA, MOO-YOUNG M (2008). Ethanol fermentation technologies from sugar and starch feedstocks. *Biotechnology advances*, **26**(1): 89-105.

BASMACIOĞLU H, ERGÜL M (2002). Silaj mikrobiyolojisi. *Hayvansal Üretim*, **43** (1): 12-24.

BLOCKER JS, DAVID MF, TYRRELL IR (2003) Alcohol and Temperance in History. *An International Encyclopedia*. ABC-CLIO, 1st Ed, 33-45.

BLOOMFIELD K, GRITTNER U, KRAMER S, GMEL G (2006). Social inequalities in alcohol consumption and alcohol-related problems in the study countries of the EU concerted action 'Gender, Culture and Alcohol Problems: A Multi-national Study'. *Alcohol and Alcoholism*, **41**: 26–36.

BONDY SC (1992). Ethanol toxicity and oxidative stress. *Toxicology letters*, **63** (3): 231-241.

BONORA M , SHIELDS GI , KNUTH SL, BARTLETT JR D, ST. JOHN WM (1984). Selective depression by ethanol of upper airway respiratory motor activity in cats. *American Review of Respiratory Disease*, ***130*** (2): 156-161.

BARNHILL JR MT, HERBERT D, WELLS JR DJ (2007). Comparison of hospital laboratory serum alcohol levels obtained by an enzymatic method with whole blood levels forensically determined by gas chromatography. *Journal of analytical toxicology* **31**(1): 23-30.

BLUME P, LAKATUA DJ (1973). The effect of microbial contamination of the blood sample on the determination of ethanol levels in serum. *American Journal of Clinical Pathology*, **60**(5): 700-702.

BURATTI S, BENEDETTI S (2016). Alcoholic Fermentation Using Electronic Nose and Electronic Tongue. *Electronic Noses and Tongues in Food Science* **28:** 291-299.

CHANG J, KOLLMAN SE (1989). The Effect of Temperature on the Formation of Ethanol by Canadida Albicans in Blood. *Journal of Forensic Science* **34**(1): 105-109.

CHARLEBOIS RC, CORBETT MR, WİGMORE JG (1996). Comparison of ethanol concentrations in blood, serum, and blood cells for forensic application. *Journal of analytical toxicology*, **20**(3): 171-178.

CHAUDHARY A, KARITA S (2017). Screening of yeast isolates from flowers for effective ethanol production. *Turkish Journal of Biology*, **41**(6): 890-900.

CHURCH AS, WITTING MD (1997). Laboratory testing in ethanol, methanol, ethylene glycol, and isopropanol toxicities. *The Journal of emergency medicine* **15**(5), 687-692.

CIANI M, COMITINI F, MANNAZZU I (2008). Alcoholic Fermentation. *Encyclopedia of Ecology.* Università Politecnica delle Marche, Ancona, Italy. 1550–1557.

CODEX ALIMENTARIUS (1987). General Requirements for Natural Flavourings (CAC/GL 29.1987). Erişim adresi: [www.codexalimentarius.net]. Erişim tarihi: 16/02/2017.

CODEX ALIMENTARIUS (1997). Codex General Standard for Contaminants and Toxins in Foods (CODEX STAN 193–1995, Rev.1–1997). Erişim adresi: [www.codexalimentarius.net]. Erişim tarihi: 16/02/2017.

CODEX ALIMENTARIUS (2006). Codex General Standard for Food Additives (CODEX STAN 192–1995, Rev. 7–2006). Erişim adresi: [www.codexalimentarius.net]. Erişim tarihi: 16/02/2017.

COWAN E, SU M (2015). Ethanol intoxication in adults. Erişim adresi: [https://www.uptodate.com/contents/ethanol-intoxication-in-adults#H3]. Erişim tarihi: 12/03/2017.

COX RA, CRIFASI JA (1990). A comparison of a commercial microdiffusion method and gas chromatography for ethanol analysis. *Journal of analytical toxicology* **14**(4): 211-212.

ÇAKALAĞAOĞLU F (2005). Tissue processing–Doku takibi. *Aegean Pathology Journal* **2**: 29-34.

DJURDJIC V, STOJANOVIC S (1998). A Method for Spectrophotometric Determination of Acetaldehyde with Thiosemicarbazide in Blood. *The scientific journal Facta Universitatis Series: Physics, Chemistry and Technology Vol. 1*, **5**: 129 - 134

DUBOWSKI KM (1977). Manual for analysis of ethanol in biological liquids. *National Technical Information Service.*

DUBOWSKI KM (1980). Alcohol determination in the clinical laboratory. American journal of clinical pathology **74** (5), 747-750.

DUBOWSKI KM, GADSDEN RH, POKLIS A (1997). The stability of ethanol in human whole blood controls: an interlaboratory evaluation. *J Anal Toxicol.* **21**(6):486-91.

EKKA M, AGGARWAL P (2015). Toxic alcohols. *Journal of Mahatma Gandhi Institute of Medical Sciences* **20**(1), 38.

FENN JB, MANN M, MENG CK, WONG SF, WHITEHOUSE CM (1989). Electrospray ionization for mass spectrometry of large biomolecules. *Science* **6**: 64-71.

FREZZA M, DI PADOVA C, POZZATO G, TERPIN M, BARAONA E, LIEBER CS (1990). High blood alcohol levels in women: the role of decreased gastric alcohol dehydrogenase activity and first-pass metabolism. *New England Journal of Medicine* **322** (2): 95-99.

GHADIRINEJAD M, ATASOYLU E, IZBIRAK G, GHA-SEMI M (2016). A Stochastic Model for the Ethanol Pharmacokinetics. *Iranian journal of public health* **45** (9), 1170.

GLUCKSMAN E (1994). Alcohol and accidents, *British Medical Bulletin* **50**:76–84

GUNTHER C, RUSILAS K (2012). Fermentation Of Sucrose In *S. Cerevisiae*. Erişim adresi: [https://www.coursehero.com/file/22677876/Fermentation-Lesson] Erişim tarihi: 14/04/2017.

GÜRDAL F (2014). Alkol Entoksikasyonlarinda Analitik İncelemeler. *4. Tıp Hukuku Günleri Adli Toksikoloji* 1. Baski 127.

FERRARI LA, TRISZCZ JM, GIANNUZZI L (2006). Kinetics of ethanol degradation in forensic blood samples. *Forensic science international* **161**(2-3):144-150.

HALKET JM, WATERMAN D, PRZYBOROWSKA AM, PATEL RK, FRASER PD, BRAMLEY PM (2004). Chemical derivatization and mass spectral libraries in metabolic profiling by GC/MS and LC/MS/MS. *Journal of experimental botany* **56** (410): 219-243.

HANSON D (2013). Historical evolution of alcohol consumption in society. *Alcohol: Science, policy and public health*. 4-10

HARDING P (2003). Alcohol toxicology for prosecutors: targeting hardcore impaired drivers. Alexandria, VA: American Prosecutors Research Institute, 5-28.

HAYDEN PM, LAYDEN MT, HICKEY MD (1977). The stability of alcohol content in samples of blood and urine. *Irish journal of medical science*, **146** (1): 48-53.

HELMENSTINE AM (2017). Ethanol Molecular Formula and Empirical Formula. Erişim adresi: [https://www.thoughtco.com/ethanol-molecular-and-empirical-formula-608476]. Erişim tarihi: 02/12/2017.

HITES RA (1997). Gas chromatography mass spectrometry. Handbook of instrumental techniques for analytical chemistry. 609-626.

HODGSON E (2004). A textbook of modern toxicology. John Wiley & Sons. 35-36

HØISETH G (2009). Use of ethyl glucuronide and ethyl sulphate in forensic toxicology. Erişim adresi: [https://www.duo.uio.no/bitstream/handle/10852/28161/1/DUO_839_Hoiseth.pdf] Erişim tarihi: 02/12/2017.

HOLFORD NH (1987). Clinical pharmacokinetics of ethanol. *Clinical pharmacokinetics* **13**(5): 273-292.

HONEY D, CAYLOR C, LUTHI R, KERRIGAN S (2005). Comparative alcohol concentrations in blood and vitreous fluid with illustrative case studies. *Journal of analytical toxicology* **29**(5), 365-369.

HOOVER MP (1960). Management of acute alcoholic intoxication. *Canadian Medical Association Journal*, **83**(26), 1352.

GATELY I (2009). Drink: A Cultural History of Alcohol.

IARC MONOGRAPHS ON THE EVALUATION OF CARCINOGENIC RISKS TO HUMANS (2006). Volume 96, Alcohol Consumption and Ethyl Carbamate Lyon, France.

ISHIHARA H, ISHIZAKA O (1971). Simultaneous Determination of Ethanol and Carbon Dioxide by Two-Order Microdiffusion Analysis and Its Application to Analysis of Alcoholic Fermentation. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **19**(5): 1041-1045.

JONES AW (2003). Pharmacodynamics and Pharmacokinetics of Alcohol. Presented at meeting of the California Association of Toxicologists, Santa Rosa, CA.

JONES AW (2007). Are changes in blood-ethanol concentration during storage analytically significant? Importance of method imprecision. Clin Chem Lab Med.

JONES AW, ERICSSON E (2016). Decreases in blood ethanol concentrations during storage at 4° C for 12 months were the same for specimens kept in glass or plastic tubes. *Practical laboratory medicine* **4**: 76-81.

JONES AW, HAHN RG, STALBERG HP (1992). Pharmacokinetics of ethanol in plasma and whole blood: estimation of total body water by the dilution principle. *European journal of clinical pharmacology* **42**(4): 445-448.

KARCH, SB (2006). Drug abuse handbook. CRC press.

KATZEN R, DIEBOLD VB (1976). Alcohol distillation process. Katzen Raphael Associates International Inc, U.S. Patent 3,990,952.

KAYE S (1980). The collection and handling of the blood alcohol specimen. *American journal of clinical pathology* **74**(5): 743-746.

KESEN J, TOPBAŞ M, GÜNDÜZ K, YANDI M (2004). KTÜ Tıp Fakültesi Farabi Hastanesi Acil Tıp Anabilim Dalına trafik kazası sonucu başvuran sürücülerin alkol düzeyleri. *Türkiye Acil Tıp Dergisi* **4**(2): 51-4.

KOCAK FE, ISIKLAR OO, KOCAK H, MERAL A (2015). Comparison of blood ethanol stabilities in different storage periods. *Biochemia medica: Biochemia medica* **25**(1): 57-63

KOLB B, ETTRE LS (2006). Static headspace-gas chromatography: theory and practice. John Wiley & Sons.

KUGELBERG FC, JONES AW (2007). Interpreting results of ethanol analysis in postmortem specimens: a review of the literature. *Forensic science international* **165**(1), 10-29.

LACHENMEIER DW, REHM J, GMEL G (2007). Surrogate alcohol: what do we know and where do we go?. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* **31**(10): 1613-1624.

LI TK, BEARD JD, ORR WE, KWO PY, RAMCHANDANI VA, THOMASSON HR (2000). Variation in ethanol pharmacokinetics and perceived gender and ethnic differences in alcohol elimination. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* **24**(4): 415-416.

LIEBER CS (1992). Medical and Nutritional Complications of Alcoholism Springer, Boston, MA. 165-183.

LIU L, AA J, WANG G, YAN B, ZHANG,Y, WANG X., ... ZHENG T (2010). Differences in metabolite profile between blood plasma and serum. *Analytical biochemistry* **406** (2), 105-112.

MACHATA G (1975). The advantages of automated blood alcohol determination by head space analysis. *Zeitschrift für Rechtsmedizin* **75**(4): 229-234.

MACLEOD LD (1949). Determination of alcohol by microdiffusion. *J. biol. Chem* **181**: 323-331

MAEDER G, VEUTHEY JL, PELLETIER M, HAERDI W (1990). Spectrophotometric determination of ethanol in blood using a flow-injection system with an immobilized enzyme (alcohol dehydrogenase) reactor coupled to an on-line dialyser. *Analytica chimica acta* **231:** 115-119.

MIRSAL H, PEKTAŞ Ö, KALYONCU A, BEYAZYÜREK M (2002). Alkol Bağimlilarinda Karaciğer Fonksiyon Testleri İle Sosyodemografik-Klinik Özellikler Arasindaki İlişkiler. *Bagimlilik Dergisi* **3**(1), 27-30.

NORBERG Å, JONES AW, HAHN RG, GABRIELSSON JL (2003). Role of variability in explaining ethanol pharmacokinetics. *Clinical pharmacokinetics* **42**(1): 1-31.

NYKÄNEN L (1986). Formation and occurrence of flavor compounds in wine and distilled alcoholic beverages. *American Journal of Enology and Viticulture* **37**(1), 84-96.

OSCAR-BERMAN M, MARINKOVIĆ K (2007). Alcohol: effects on neurobehavioral functions and the brain. *Neuropsychology review* **17** (3): 239-257.

WENTHOLD P (2014). Organic Chemistry for Engineers (1st Semester) Fall 2014. Purdue CHM 26100.

PENETAR DM, MCNEIL JF, RYAN ET, LUKAS SE (2008). Comparison among plasma, serum, and whole blood ethanol concentrations: impact of storage conditions and collection tubes. *Journal of analytical toxicology* **32**(7): 505-510.

PERPER JA, TWERSKI A, WIENAN JW (1986). Tolerance at High Blood Alcohol Concentrations: A Study of 110 Cases and Review of the Literature. *Journal of Forensic Sciences* **31**: 212-221.

PETKOVIC S, SAVIC S, ZGONJANIN D, SAMOJLIK I (2008). Ethanol concentrations in antemortem blood samples under controlled conditions. *Alcohol & Alcoholism* **43**(6): 658-660.

PILLAY VV (2013). Modern medical toxicology (4th Ed.). Jaypee Brothers Medical Publishers (P) Ltd.

PUBCHEM OPEN CHEMISTRY DATABASE. Erişim adresi: [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/702]. Erişim tarihi: 01/12/2017.

RAKESH A (2017). HM 202 F&B service. TERM Spring '17 study guides at Kv Institute Of Management Studies And Information Studies.

RIVEROS-ROSAS H, JULIAN-SANCHEZ A, PINA E (1997). Enzymology of Ethanol and Asetaldehyde Metabolism in Mammals. Archives of Medical Research; 28-4: 453-471.

RUSYN I, BATALLER R (2013). Alcohol and toxicity. *Journal of hepatology* **59** (2): 387-388.

SARACEVIC A, SIMUNDIC AM, DUKIC L (2014). The stability of ethanol in unstoppered tubes. *Clinical biochemistry*, **47** (1-2): 92-95.

SEITZ HK, SALASPURO M, SAVOLAINEN M, HABER P, ISHII H, TESCHKE R, LIEBER CS (2005). From alcohol toxicity to treatment. *Alcoholism: clinical and experimental research* **29** (7): 1341-1350.

SHAH M (2017). Relationship of Blood and Urine Alcohol Levels in Postmortem Samples and Prevalence of Alcohol Level above Legal Limit in Hospital Kuala Lumpur.

SHAN X, TISCIONE NB, ALFORD I, YEATMAN DT (2011). A study of blood alcohol stability in forensic antemortem blood samples. *Forensic science international* **211** (1-3), 47-50.

SIEMENS ADVIA CHEMISTRY YÖNTEMI PROSPEKTÜSÜ (2014). ADVIA Chemistry XPT Ethanol 2.

SINNATHURAI J (2013). The Effect of Preservative and Temperature on Blood Alcohol Concentration During Storage Period. Doctoral dissertation, Universiti Teknologi Malaysia.

SOYSAL Z, ÇAKALIR C (1999). Adli Tıp. Cilt I, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları. 3-20.

STOJILJKOVIC G, MALETIN M, STOJIC D, BRKIC S, ABENAVOLI L (2016). Ethanol concentration changes in blood samples during medium-term refrigerated storage. *European review for medical and pharmacological sciences* **20**(23): 4831-4836.

STONE J, NIXON M (2000). The Distillation of Alcohol: A Professional Guide for Amateur Distillers. Saguenay International.

SUNSHINE I, HODNETT N (1971). Methods for the determination of ethanol and acetaldehyde. In The biology of alcoholism. Springer, Boston, MA. 545-573.

SUTLOVIC D, VERSIC-BRATINCEVIC M, DEFINIS-GOJANOVIC M (2014). Blood alcohol stability in postmortem blood samples. *The American journal of forensic medicine and pathology* **35**(1): 55-58.

TISCIONE NB, VACHA RE, ALFORD I, YEATMAN DT, SHAN X (2015). Long-term blood alcohol stability in forensic antemortem whole blood samples. *Journal of analytical toxicology* **39**(6): 419-425.

US DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES (2000). 10th special report to the US Congress on alcohol and health. Bethesda, MD: National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism.

VANCE CS, CARTER CR., CARTER RJ., DEL VALLE MM, PEÑA JR (2015). Comparison of immediate and delayed blood alcohol concentration testing. *Journal of analytical toxicology* **39**(7): 538-544.

VICTOR M (1992). The effects of alcohol on the nervous system. In Medical and Nutritional Complications of Alcoholism- Mechanisms and Management. Springer, Boston, MA. 413-457.

VIEL G, BOSCOLO-BERTO R, CECCHETTO G, FAIS P, NALESSO A, FERRARA SD (2012). Phosphatidylethanol in blood as a marker of chronic alcohol use: a systematic review and meta-analysis. *International journal of molecular sciences* **13**(11): 14788-14812.

VONGHIA L, LEGGIO L, FERRULLI A, BERTINI M, GASBARRINI G, ADDOLORATO G (2008). Acute alcohol intoxication. *European Journal of Internal Medicine* **19**(8): 561-567.

VUKOVIC J, MARKOVIC D, SUTLOVIC D (2015). Comparison of Breath and Blood Alcohol Concentrations in a Controlled Drinking Study. *Journal of Substance Abuse & Alcoholism* **3**(2), 1029.

VURAL N (1996) Toksikoloji. Ankara Üniversitesi Eczacýlýk Fakültesi Yayınları 73, Ankara.

VURAL, N (2000). Toksikoloji Laboratuvar Kitabı. Ankara: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları; **84**: 106–107.

VURAL N, SAYGI Ş (1981). Kan Alkolünün (Mikroyöntemle) GLK île Tayini ve Yöntemin Trafikte Uygulanması. *J. Fac. Pharm. Ankara* **11**: 190.

YU Z, KASTENMÜLLER G, HE Y, BELCREDI P, MÖLLER G, PREHN C, MENDES J..... POLONIKOV A (2011). Differences between human plasma and serum metabolite profiles. *PloSone*, **6**(7): 21230.

WATSON PE, WATSON ID, BATT RD (1981). Prediction of blood alcohol concentrations in human subjects. Updating the Widmark Equation. *Journal of Studies on Alcohol* **42**(7): 547-556.

WIGMORE JG (2014). The Forensic Toxicology of Alcohol and Best Practices for Alcohol Testing in the Workplace. Canadian Nuclear Safety Commission.

WILSNACK RW.; WILSNACK SC. OBOT IS (2005). Why study gender, alcohol and culture. *Alcohol, gender and drinking problems: Perspectives from low and middle income countries*, 1-23.

WINEK CL, JONES AW (1989). Human metabolism of alcohol. Vol I.

WINEK CL, T WINEK, WAHBA WW (1996). The effect of storage at various temperatures on blood alcohol concentration. *Forensic Science International* **78**: 179–185.

WHO (2010). Global strategy to reduce the harmful use of alcohol, World Health Organization, Geneva, Switzerland

WHO (2014). Global status report on alcohol and health.World Health Organization, Geneva, Switzerland

WRIGHT FB (1994). Distillation of alcohol and de-naturing (Vol. 2). Lindsay Publications, Bradley, IL.

YANG ST, LIU X, ZHANG Y (2007). Metabolic engineering–applications, methods, and challenges. In Bioprocessing for Value-Added Products from Renewable Resources. 73-118

YANG Y, BOOTS K, ZHANG D (2012). A sustainable ethanol distillation system. *Sustainability* **4**(1), 92-105.

YENIGÜN M (2006). Alkol tüketimi ve tıp. Erişim adresi: [http://cms.galenos.com.tr/Uploads/Article_5939/2006-3-1.pdf] Erişim tarihi: 01/12/2017.

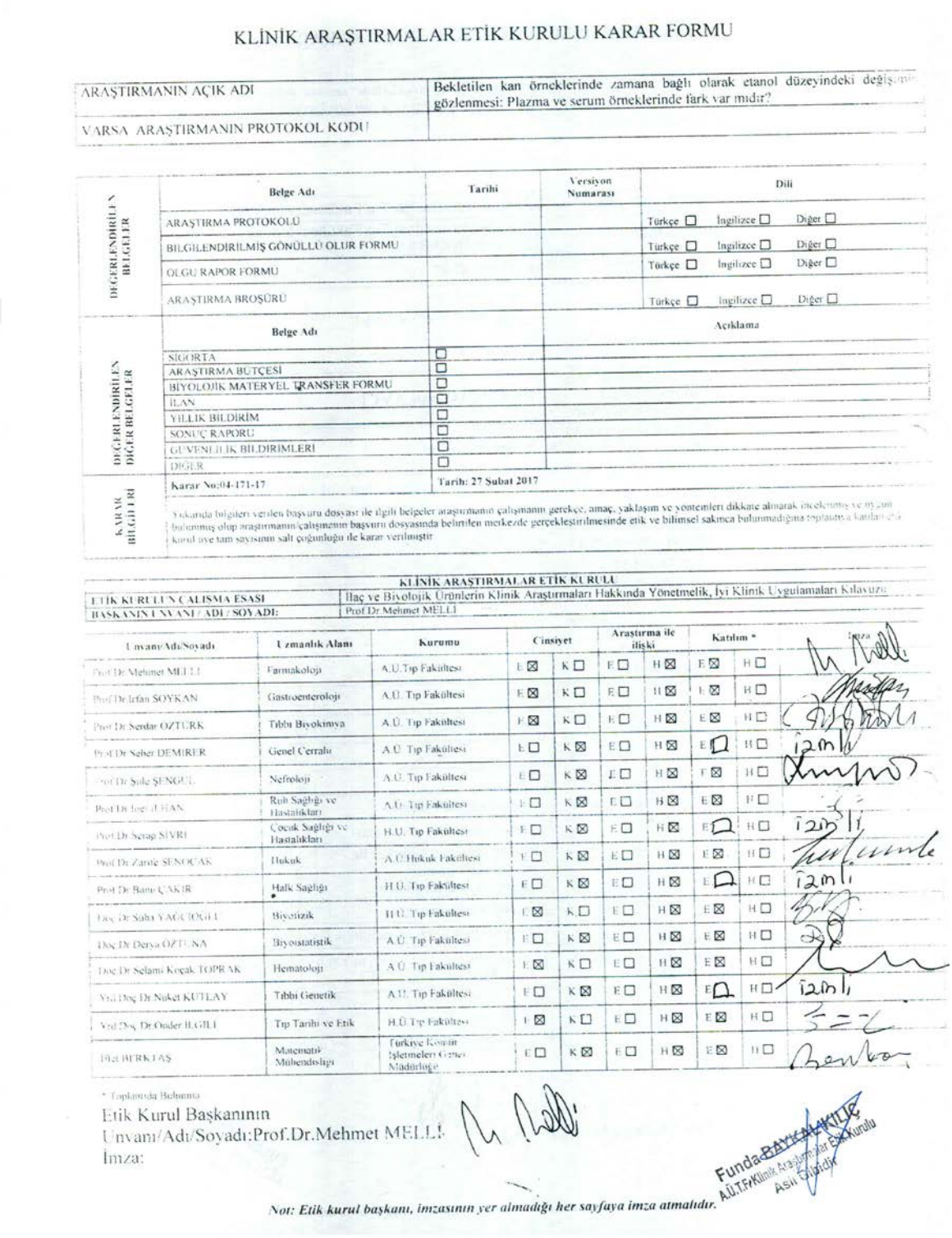
ZAKHARI S (2006). Overview: how is alcohol metabolized by the body?. *Alcohol Research & Health* **29**(4): 245-255.

ZHENG Y (2011). Development and application of an LC-MS method for the alcohol biomarker phosphatidylethanol (PEth) in blood. Erişim adresi: [https://openarchive.ki.se/xmlui/bitstream/handle/10616/40782/Thesis_Yufang_Zheng?sequence=2&isAllowed=y]. Erişim tarihi: 01/12/2017.

ZUBA D, GUBAŁA W, ŁABEDZ J (2000). Statistical estimation of high alcohol concentrations determined in breath and in blood. Probl. *Forensic Sci* **42:**209-214.

EKLER

Ek-1. Etik Kurul Kararı



KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Bekletilen kan örneklerinde zamana bağlı olarak etanol düzeyindeki değiş... gözlenmesi: Plazma ve serum örneklerinde fark var mıdır?
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı		Açıklama
	SİGORTA	☐	
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☐	
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐	
	İLAN	☐	
	YILLIK BİLDİRİM	☐	
	SONUÇ RAPORU	☐	
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐	
	DİĞER	☐	

KARAR BİLGİLERİ		
	Karar No:04-171-17	Tarih: 27 Şubat 2017
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan ... kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir	

	KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof.Dr.Mehmet MELLİ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof.Dr.Mehmet MELLİ	Farmakoloji	A.Ü.Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.İrfan SOYKAN	Gastroenteroloji	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Serdar ÖZTÜRK	Tıbbi Biyokimya	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Seher DEMİRER	Genel Cerrahi	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Prof.Dr.Şule ŞENGÜL	Nefroloji	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.İnci İLHAN	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Serap SİVRİ	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	H.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Prof.Dr.Zarife ŞENOCAK	Hukuk	A.Ü.Hukuk Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Banu ÇAKIR	Halk Sağlığı	H.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Doç.Dr.Suha YAĞCIOĞLU	Biyoetik	H.Ü. Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç.Dr.Derya ÖZTUNA	Biyoistatistik	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç.Dr.Selami Koçak TOPRAK	Hematoloji	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Yrd.Doç.Dr.Nuket KUTLAY	Tıbbi Genetik	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Yrd.Doç.Dr.Önder ILGILI	Tıp Tarihi ve Etik	H.Ü.Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Dilek BERKTAŞ	Matematik Mühendisliği	Türkiye Kamu İşletmeleri Genel Müdürlüğü	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	

* Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı:Prof.Dr.Mehmet MELLİ
İmza:

Funda BAYKAL AKILLİ
A.Ü.T.F. Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
Asıl Üyesidir

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Bekletilen kan örneklerinde zamana bağlı olarak etanol düzeyindeki değişimin gözlenmesi: Plazma ve serum örneklerinde fark var mıdır?
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

ETİK KURUL BİLGİLERİ		
	ETİK KURULUN ADI	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Morfoloji Binası 06100 Sıhhıye/ANKARA
	TELEFON	0312 595 82 27
	FAKS	0312 310 63 70
	E-POSTA	etik@medicine.ankara.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ					
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof.Dr.Aslıhan AVCI			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Biyokimya			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI				
	DESTEKLEYİCİ				
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZI VE TÜRÜ	FAZ 1	☐		
		FAZ 2	☐		
		FAZ 3	☐		
		FAZ 4	☐		
		Gözlemsel ilaç çalışması	☐		
		Tıbbi cihaz klinik araştırması	☐		
		İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları	☐		
		İlaç dışı klinik araştırma	☐		
		Diğer ise belirtiniz: Metadolojik Çalışma			
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı:Prof.Dr.Mehmet MELLİ
İmza:

Funda BAYKAL KILIÇ
A.Ü.T.F. Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
Asıl Gibidir

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

ÖZGEÇMİŞ

Neira Mustabasic

KİŞİSEL BİLGİLER

Adres: Turgut Reis Caddesi No:63 – Çankaya, Ankara – Türkiye

Vatandaşlık: Bosna Hersek

Doğum Tarihi: 28/02/1989

Telefon: +905395165721

e-mail: neiramustabasic@gmail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ

Eylül, 2007 – Haziran,2012

Eczacılık Fakültesi, Tuzla Üniversitesi, Bosna Hersek

Eczacılık Uzmanı

Eylül, 2014 – Haziran, 2018

Toksikoloji ve Adli Kimya Bölümü, Adli Bilimler Enstitüsü, Ankara Üniversitesi, Türkiye

Doktora

İŞ TECRÜBESİ

Kasım, 2017 -> Devam

Biem İlaç San. Ve Tic. A.Ş., Ankara – Türkiye

Dış Ticaret ve Yurtdışı Ülke Ruhsatlandırma Uzmanı

Asli görev ve sorumluluklar:

- Stratejik uluslararası pazarlama planları geliştirmek ve yürütmek
- Ortalama satış gelişimini yürütmek ve ihracat satışları için fiyatlama stratejileri geliştirmek
- Yeni pazarlarda rekabet gücü ve yüksek marjlar sağlayabilmek için müşteri bazlı teklifler hazırlamak ve sonlandırmak
- Yerli iş ortaklarıyla birlikte çalışarak yurtdışı fırsatları değerlendirmek
- Yurtdışında açılan ihaleleri gözlemlemek ve takip etmek, bölgedeki ortakların bu ihalelere katıldığından ve kazanmak için yeterli şartlara sahip olduğundan emin olmak
- Ortaklık ağını ve sunulan ürün yelpazesini genişletmek
- Efektif bir ticaret, operasyon ve ilişki kuracak şekilde satış ve distribütörlük için sözleşme görüşmeleri yapmak
- Yurtdışında Name Patient Program (NPP) yönetmek
- İlaç ruhsatlandırması için gerekli dökümanları yerel ve uluslararası yönetmeliklere göre hazırlamak
- Bütün ihracat ülkelerinde ilaç ruhsatlandırmalarını takip etmek ve yönetmek
- Uluslararası Marka Kaydı sorumlusu
- AR-GE, Finans, Hukuk, Lojistik ve diğer departmanlarla gerekli hallerde iletişimi sağlamak
- Yönetime ülke raporları, satış takibi ve haftalık raporlar sunmak

Ocak, 2017 -> Kasım, 2017

Novagenix Bioanalitik İlaç AR-GE Merkezi, Ankara – Türkiye

Bitkisel Ürün Analiz Laboratuvarı Baş Laboratuvar Uzmanı

Asli görev ve sorumluluklar:

- Laboratuvar sistemleri hakkında güçlü teorik ve pratik bilgi (AAS, HPLC, LCMS, UPLC-QTof-MS, GC-MS, Spectrophotometry)
- Laboratuvar metodu geliştirmek ve validasyonunu yapmak
- Ph. Eur, USP / NF ve diğer standart monografların test metodlarını uygulamak
- Farmasötik Ham Madde Analizleri, toksikolojik analizler (Terapötik ve suiistimal ilaçlar, Ağır Metaller, pestisit kalıntı testi analizleri), Bitkisel Ürün Testleri
- Sunumlar ve detaylı raporlar sağlamak
- Projeleri yönetmek
- Profesyonel yayınları takip etmek, network sağlamak, profesyonel topluluklara katılım sağlamak

Haziran, 2012 – Aralık, 2013

“TOWN PHARMACY”, Maglaj, Bosna Hersek

Başeczacı

Asli görev ve sorumluluklar:

- İlaç ve medikal preparatları hazırlayıp kullanıma hazır hale getirmek
- Hastalara ilaç ve medikal preparat seçimlerinde efektleri, aksiyon yolları, ilaç ve dozaj seçimi hakkında danışmanlık yapmak
- Hastalara ürünlerin yan etkileri hakkında ve diğer ilaç ve medikal preparatlar ile ilişkileri hakkında danışmanlık yapmak
- Gelen ürünlerin kalitesini kontrol etmek ve siparişlerin üretimlerini takip etmek, stok durumunu takip etmek ve eczanenin finansal planını takip etmek
- Hastane ilaç tedariğini planlamak
- Ürünler, ürün fiyatları ve yeni ürünleri takip etmek

DİLLER

- Boşnakça/Hırvatça/Sırpça: anadil
- İngilizce: İleri
- Türkçe: İleri

LİSANSLAR

- Mart, 2013

Bosna Hersek Federasyonu Eczacılık Odası

Bağımsız olarak Bosna Hersek'te eczacılık yapabilme lisansı

SERTİFİKALAR

- Mart, 2017

Waters Eğitim Servisleri

Xevo G2-XS Unifi Natural Product Application Training

- Ocak, 2017

Ant Teknik Eğitim Servisleri

Shimadzu 'AA-7000' Atomic Absorption Spectrophotometer Training

- Haziran, 2014

Gazi Üniversitesi, Türk Dili Öğretimi, Araştırma ve Uygulama Merkezi

Türk Dili Programı C1 seviyesi

YAYINLAR

- Mustabasic N. (2016) Mustabasic N. (2016). Increasing number of chronic respiratory diseases as a clear sign of the impact of Air Pollution on the population in Bosnia and Herzegovina. The 2nd International Congress and Workshop of Forensic Toxicology - Industrial and Environmental Toxicology - Ankara, Turkey.
- Mustabasic N., & Isik S. (2017). Determination of sildenafil mixed into herbal honey mixture by ultra-performance liquid chromatography-quadrupole time of flight mass spectrometry. Croatian journal of food science and technology, 9(2), 168-172.