(مقالهٔ پژوهشی)

مقایسهٔ میزان الکل خون و مایع زجاجیه در اجساد ارجاعی به مرکز پزشکی قانونی استان فارس

آریا حجازی[1]*، مریم حسینی[2]، افروز نیکبخت[3]، طاهره طاریان[4]، غلامرضا ناصری[5]، حمیدرضا قربانی[6]، حمید نظمی[7]

۱- متخصص پزشکی قانونی.
۲- دکترای داروسازی.
۳- کارشناس ارشد ایمونولوژی
٤- کارشناس ارشد شیمی.
٥- کارشناس علوم آزمایشگاه.
٦- استادیار گروه پزشکی قانونی.
۷- پزشک عمومی.

۱و۲و۳و٤و٥و۷- مرکز تحقیقات پزشکی قانونی، سازمان پزشکی قانونی کشور، تهران، ایران.
٦- گروه پزشکی قانونی. دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی-شاپور اهواز، ایران.

* نویسندهٔ مسؤول:
آریا حجازی، متخصص پزشکی قانونی، مرکز تحقیقات پزشکی قانونی، سازمان پزشکی قانونی کشور، تهران، ایران.
تلفن: ۰۰۹۸۹۱۷۱۱۳۵۹۹۳

Email:
arya_hedjazi@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: اندازه‌گیری اتانول در اجساد از مهمترین اقدامات آزمایشگاه‌های سم‌شناسی قانونی می‌باشد. تفسیر میزان الکل به دست آمده از نمونه‌های خون به دلیل محدودیت‌های مختلف، آسان نمی‌باشد. مایع زجاجیه نمونه مناسبی برای جایگزینی نمونه خون می‌باشد.در این مطالعه غلظت اتانول در خون و مایع زجاجیه اجساد جهت مقایسه این دو، به دست آوردن نسبت آنها و نقش این اندازه‌گیری هم زمان در تفسیر میزان اتانول نمونه‌های اجساد بررسی شده است.

روش بررسی: نمونه‌های خون ورید فمورال و مایع زجاجیه مربوط به ۱۶۷ جسد ارجاعی به این مرکز، با روش گازکروماتوگرافی(FID) مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج حاصل از تعیین غلظت اتانول، با یکدیگر مقایسه شدند و رابطه بین این دو غلظت بدست آمد.

یافته‌ها: از نمونه‌های مورد بررسی، ۱۴۲ نمونه‌دارای اتانول در خون ولی فاقد آن در مایع زجاجیه بودند و در ۲ نمونه اتانول در زجاجیه به دست آمد در حالی که خون فاقد اتانول بود. غلظت متوسط اتانول در خون ۶۱/۵ mg درصد و متوسط اتانول در زجاجیه ۱۶۷ mg درصد به دست آمد. ضریب تبدیل این دو غلظت به میزان ۰/۷ محاسبه گردید.

نتیجه‌گیری: برای تفسیر صحیح میزان غلظت اتانول در اجساد، اندازه‌گیری آن در مایع زجاجیه ضروری به نظر می‌رسد. همچنین لزوم بهبود در روش‌های نمونه‌گیری و نگهداری نمونه‌های خون برای به حداقل رساندن روند تولید الکل پس از مرگ ضروری می‌باشد.

کلید واژگان: اتانول، مایع زجاجیه، خون.

دریافت مقاله: 1390/5/24 **دریافت مقالهٔ اصلاح‌شده**: 1391/2/30 **اعلام قبولی**: 1391/3/23

مقدمه

بر مبنای گزارش‌های پلیس و اورژانس مصرف بیش از حد مشروبات الکلی، نقش مهمی در تصادفات مرگبار، مرگ-های ناشی از تروما، غرق شدگی، خود کشی و سایر جرایم دارد (۱-۷).

الکل از مهمترین مواد روان‌گردان در سم‌شناسی پس از فوت بوده و بنابراین آنالیز و تفسیر نتایج غلظت الکل خون (Blood Alcohol Concentration) (BAC) در نمونه‌های اتوپسی، بخش عمده بار کاری در پزشکی قانونی و آزمایشگاه‌های سم‌شناسی را تشکیل می‌دهد(۸،۶)

انواع داروهای یافت شده در نمونه‌های خون پس از کالبد گشایی و نیز تعداد نمونه‌های مثبت اتانول یافت شده با فاکتورهای متعدد پزشکی - اجتماعی در ارتباط است که این فاکتورها در کشورهای مختلف متفاوت هستند(۹).

اندازه‌گیری کمی و کیفی اتانول در نمونه‌های پس از فوت ساده بوده و بنابراین دسترسی به نتایج دقیق، صریح و اختصاصی ممکن می‌باشد. وضعیت جسد، فاصله زمانی بین اتوپسی و مرگ، شرایط محیطی (درجه حرارت و رطوبت محلی که جسد در آن قرار گرفته است) و نوع نمونه گرفته شده، مواردی هستند که در تفسیر نتایج الکل باید مدنظر قرار گیرند. تحت برخی شرایط، الکل به وسیله فعالیت میکروبی و فرمانتاسیون گلوکز می‌تواند تولید شود که این مشکلی جدی در اجساد فاسد شده می‌باشد(۱). یکی دیگر از فاکتورهای مداخله گر، مخصوصاً در شرایطی که فرد بلافاصله پس از شرب مقادیر بالای خمر فوت کرده باشد، محل گرفتن نمونه خون است(۱۱،۱۰). همچنین دقت زیادی باید صورت پذیرد تا مطمئن باشیم که نمونه گرفته شده با اتانول یا حلال‌های خارجی دیگر حین اقدامات کالبد گشایی یا نجات فرد آلوده نشده باشد(۱).

به‌طور کلی هر مایع یا بافتی از بدن که محتوی آب باشد می‌تواند به عنوان نمونه‌ای جهت تشخیص اتانول بکار رود. علاوه بر این فاکتور دیگری که در اندازه‌گیری غلظت اتانول بایستی در نظر گرفته شود، تعیین مرحله جذب و توزیع الکل در زمان فوت می‌باشد.

روش انتخابی در کل دنیا برای تشخیص کمی و کیفی اتانول از مایعات بدن ، گاز کروماتوگرافی با دتکتور Flame Ionization با روش تزریق مستقیم و یا استفاده از Head Space می‌باشد(۱۲) نمونه‌گیری با Head Space روش ترجیحی برای تشخیص مواد فرّار است و مزایایی مانند محافظت ستون کروماتوگرافی از Over-Load با ترکیبات غیر فرّار خون را دارد.

زجاجیه به عنوان مایع آبکی داخل چشم، به عنوان نمونه مناسبی برای تشخیص اتانول بکار می‌رود. مکانیسم انتقال مولکول‌های کوچک از خون به مایعات چشمی در اواسط دهه ۱۹۴۰ مطالعه گردید. و اولین مقاله چاپ شده در مورد استفاده از مایع زجاجیه جهت آنالیز اتانول درسال ۱۹۶۶ چاپ شد (۱). از آن زمان، شیمی دانان به سنجش هم زمان مقدار اتانول در خون و زجاجیه پرداختند (۱۳).

زجاجیه نه تنها برای آنالیز الکل مفید است، بلکه برای آنالیز داروهای دیگر و نیز ترکیبات بیوشیمیایی داخل بدن نیز قابل استفاده می‌باشد(۱). مطالعات نشان داده‌اند که تفاوت در غلظت اتانول و نیز سایر ترکیبات بیوشیمیایی بین دو چشم بسیار ناچیز است (۱۴،۱۵).

به دلیل دور بودن چشم از رگ‌های خونی اصلی و نیز از دستگاه گوارش، زمانی که جسد فاسد باشد به طوری که سنتزاتانول پس از فوت احتمالی قوی محسوب شود، زجاجیه نمونه بسیار مفیدی خواهد بود. اما با این حال، زجاجیه می‌تواند حاوی گلوکز باشد که به عنوان پیش ساز و سازنده اتانول تلقی می‌شود(۱).

بیش از۴۰ سال است که افزایش پتاسیم درمایع زجاجیه به عنوان مارکرتخمین زمان فوت پیشنهاد می‌شود(۱۶).

اندازه‌گیری اتانول رایج ترین تست در آزمایشگاه‌های سم‌شناسی و قضایی است. زمانی که ارتباط بین غلظت

اتانول و درجه مسمومیت مد نظر باشد، خون نمونه معمول است. به‌طور معمول استفاده از مایعات دیگر بدن یا استفاده از سایر بافت‌ها زمانی مطرح است که دسترسی به خون بعد از مرگ امکان پذیر نباشد و یا خون کیفیت مناسبی نداشته باشد.

آنالیزهای سم‌شناسی زجاجیه دارای مزایای بسیاری است. در بسیاری موارد گرفتن این نمونه بسیار راحت بوده و بدون نیاز به انجام کالبدگشایی کامل نیز قابل دسترسی می‌باشد. زجاجیه مایعی شفاف است که این امر به تسهیل انجام آزمایشات کمک می کند. وضعیت ایزوله آناتومیکی آن، آن را از فساد محافظت می‌کند. همچنین زجاجیه دارای پایداری شیمیایی بالایی می‌باشد. در اولین مطالعه مقایسه‌ای مشخص گردید که ارتباط نزدیکی بین غلظت اتانول خون و زجاجیه وجود دارد. در مقادیر بالاتر میزان اتانول، اختلافات واضح تر خواهد بود (۱۷) .

در مطالعهٔ حاضر غلظت اتانول خون و زجاجیه در نمونه‌های جسد ارجاعی به پزشکی قانونی استان فارس مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت و نتایج بدست آمده با مقالات چاپ شده مشابه با توجه به تفاوت شرایط فرهنگی در مناطق مورد بررسی مقایسه گردید، و همچنین سعی گردید با توجه به نتایج به دست آمده اهمیت استفاده از هر نمونه در موارد خاص مورد بررسی قرار گیرد.

روش بررسی

نمونه‌های مربوط به ۱۰۹۳ نمونه خون و زجاجیه ارجاعی به پزشکی قانونی استان فارس مورد بررسی قرار گرفتند. از این میان نمونه‌های منفی حذف شده و تمرکز عمل در نمونه هایی که دارای اتانول یا متانول مثبت درخون، زجاجیه یاهر دو بودند قرارگرفت. بنابراین تعداد نمونه‌ها به ۱۶۷ نمونه مثبت اتانول یا متانول تقلیل یافت.

نمونه‌های خون در سالن تشریح پزشکی قانونی از ورید فمورال گرفته شده است. از سوی دیگر نمونه‌های زجاجیه به وسیله سرنگ از داخل چشم آسپیره شده و جمع‌آوری شده است.خون درون ظرف‌های درپوش دار ۲۰سی‌سی و نمونه‌های زجاجیه در لوله‌های دربدار ۵ سی‌سی نگهداری می‌شوند.

به ظرف‌های نگهدارنده خون به میزان ۱ درصد وزنی ماده محافظ سدیم فلوراید افزوده می‌شود. اما لوله‌های حاوی زجاجیه فاقد هر گونه محافظ می‌باشد.

نمونه‌های ارسالی به آزمایشگاه در یخچال با دمای C° ۴ نگهداری شده و آنالیز الکل روی آن انجام می‌گیرد.

نمونه‌های خون جهت بدست آوردن عصاره حاوی اتانول قبل از تزریق به دستگاه تقطیر شدند و نمونه‌های زجاجیه پس از سانتریفیوژ به دستگاه تزریق می‌شوند.

غلظت اتانول در نمونه‌ها با استفاده از دستگاه گازکروماتوگرافی (GC) مجهز به دتکتور FID اندازه‌گیری می‌شود.

یافته‌ها

نمونه‌های مورد پژوهش، شامل ۱۴۳ مرد و ۲۴ زن بوده و میانگین سنی آنها ۳۷ بود.

در این نمونه‌ها، ۲ مورد متانول مثبت گزارش شد. نمونه اول دارای اتانول درخون به میزان mg/dl ۵۶، اتانول در زجاجیه به میزان mg/dl ۶۱ و متانول درخون به میزان ۲۰mg/dl بوده و نمونه دوم فاقد اتانول در خون یا زجاجیه، اما mg/dl ۳۹ متانول در خون و mg/dl ۲۰۲ متانول در زجاجیه بود.

تنها در ۳ مورد مقادیر اتانول یافت شده در خون صفر گزارش شد. در بقیه نمونه‌ها مقادیر اتانول خون از میزان mg/dl ۵ تا mg/dl ۱۳۳ متغیر بود که میانگین غلظت اتانول یافت شده در کل نمونه‌های خون ۲۴/۲۴ بوده است. بر اساس میزان اتانول یافت شده، نمونه‌ها دسته‌بندی شده و نمودار فراوانی هر دسته در زیر مشاهده می‌شود.

چنانچه از نمودار مشخص می‌شود بیشترین فراوانی در مقادیر بین mg/dl ۱۰-۲۰ و کمترین آنها در مقادیر ۹۰-۱۰۰ و mg/dl ۱۱۰-۱۳۰ مشاهده شده است.

از طرف دیگر غلظت اتانول زجاجیه در تمامی نمونه‌ها اندازه‌گیری شده و دسته‌بندی بر اساس مقدار غلظت اتانول صورت گرفته و فراوانی هر دسته غلظت در نمودار زیر آورده شده است. ارتباط بین غلظت اتانول خون با غلظت اتانول زجاجیه در نمودار زیر آورده شده است:

چنانچه مشاهده می‌شود ۸۶/۸۲ درصد از نمونه‌ها دارای اتانول و زجاجیه صفر و درعین حال اتانول خون مثبت می‌باشد. درحالی که تنها ۳ مورد دارای اتانول خون صفر در مقابل اتانول زجاجیه مثبت می‌باشد.

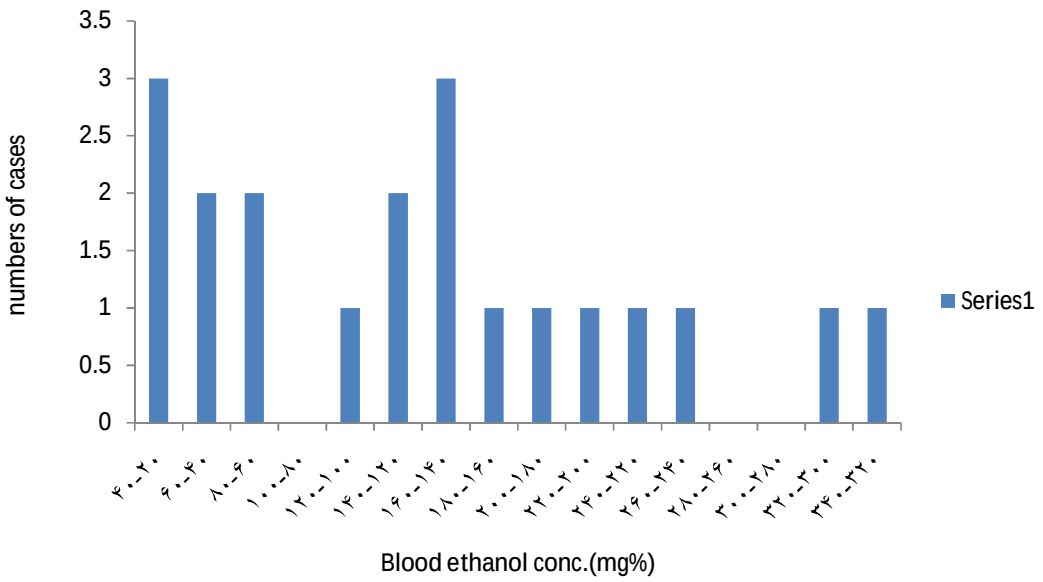
نتایج کلی به صورت خلاصه در زیر مشاهده می‌شوند:

نمونه گروه سوم دارای متانول در خون و زجاجیه می‌باشد.چون نمونه‌های دارای متانول در این گروه پژوهش شده اندک می‌باشد و تفسیر آنها از لحاظ آماری درست نمی‌باشد. بنابراین سه گروه اول از پژوهش حذف شدند.

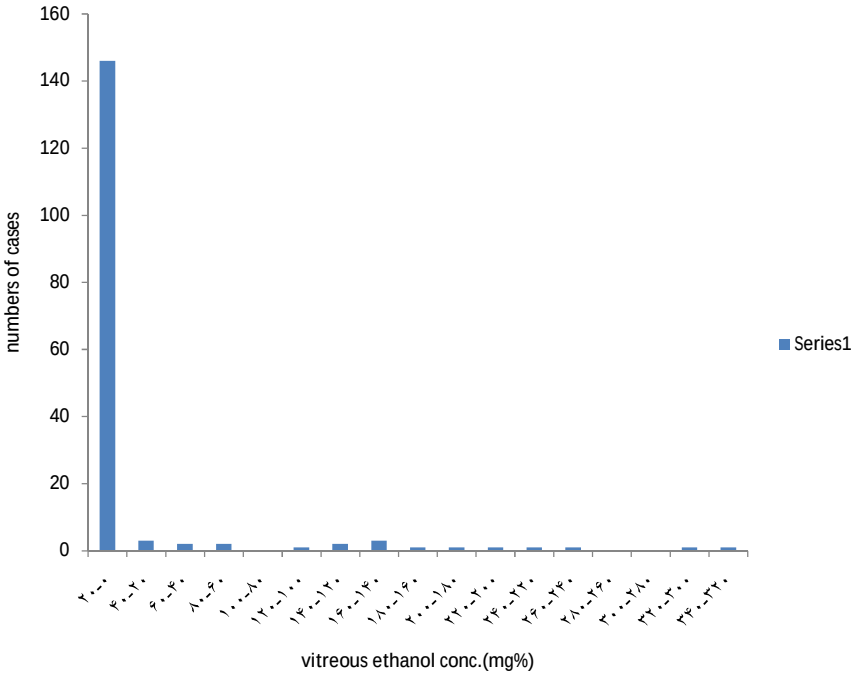
بر روی نمونه‌های گروه آخر نسبت غلظت اتانول خون به زجاجیه و برعکس محاسبه شد.

نتایج مربوط به این محاسبات در جدول-۱ به صورت خلاصه آورده شده است:

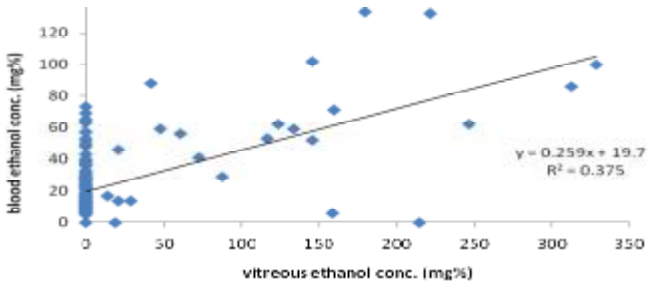
همان‌گونه که از جدول-۲ مشخص می‌شود، میانگین BAC/VHAC به مقدار ۰/۷۰۳ به دست آمده که به عنوان ضریب تبدیل به کار می‌رود.



نمودار 1: مقایسه فراوانی غلظت های اتانول یافت شده در خون (mg%)



نمودار 2: مقایسه فراوانی غلظت های اتانول یافت شده در اتانول (mg%)



نمودار 3:مقایسه غلظت اتانول خون در مقابل غلظت اتانول زجاجیه در هر نمونه (mg%)

جدول 1: خلاصه نتایج آزمون های انجام شده

غلظت اتانول خون	غلظت اتانول زجاجیه	تعداد نمونه
۰	+	۲
+	۰	۱۴۲
۰	۰	۱
+	+	۲۲

جدول2: لیست نمونه های دارای غلظت اتانول خون و زجاجیه مثبت و مقایسه آنها

تعداد	غلظت اتانول خون (mg درصد)	غلظت اتانول زجاجیه (mg درصد)	(VHAC/BAC)Vitreous Humor Alcohol Concentration	BAC/VHAC
۱	۱۷	۱۴	۰/۸۲	۱/۲۱
۲	۱۴	۲۱	۱/۵	۰/۶۶
۳	۴۶	۲۱	۰/۴۵	۲/۱۹
۴	۱۴	۲۹	۲/۰۷	۰/۴۸
۵	۸۸	۴۲	۰/۴۷	۲/۰۹
۶	۵۹	۴۸	۰/۸۱	۱/۲۲
۷	۵۶	۶۱	۱/۰۸	۰/۹۱
۸	۴۱	۷۳	۱/۷۸	۰/۵۶
۹	۲۹	۸۸	۳/۰۳	۰/۳۲
۱۰	۵۳	۱۱۷	۲/۲	۰/۴۵
۱۱	۶۲	۱۲۴	۲	۰/۵
۱۲	۵۹	۱۳۴	۲/۲۷	۰/۴۴
۱۳	۱۰۲	۱۴۶	۱/۴۳	۰/۶۹
۱۴	۵۲	۱۴۶	۲/۸	۰/۳۵
۱۵	۷۱	۱۶۰	۲/۲۵	۰/۴۴
۱۶	۱۳۳	۱۸۰	۱/۳۵	۰/۷۴
۱۷	۱۳۲	۲۲۲	۱/۶۸	۰/۵۹
۱۸	۶۲	۲۴۷	۳/۹۸	۰/۲۵
۱۹	۸۶	۳۱۳	۳/۶۳	۰/۲۷
۲۰	۱۰۰	۲۳۹	۳/۲۹	۰/۳
میانگین	۶۱/۰۵	۱۲۷/۳۳	۱/۹۴	۰/۷۰۳

بحث

بررسی وجود یا عدم وجود اتانول در نمونه خون اجساد و اندازه‌گیری دقیق غلظت آن نقش مهمی در نتیجه-گیری‌های قانونی و قضائی دارد. از طرفی، غلظت اتانول اندازه‌گیری شده در نمونه خون پس از فوت نیازمند تفسیر است. تعیین اینکه متوفی با نمونه مثبت الکل، چه مدت قبل از مرگ شرب خمر داشته و یا اینکه سطح اتانول خون در حد آستانه غیرمجاز قرار گرفته است یا خیر حائز اهمیت می‌باشد(۱،۹).

در دسترس‌ترین نمونه فیزیولوژیک برای آزمایشات سم‌شناسی خون می‌باشد ولی در بررسی‌های سم‌شناسی پس از مرگ، همواره بایستی یک نمونه جایگزین خون اجساد وجود داشته باشد، به خصوص در زمانی که مقدار کافی خون برای نمونه‌گیری در دسترس نبوده و یا خون فاسد شده باشد (۱۸).

وجود رابطه بین غلظت اتانول در خون و مایعات جایگزین برای بررسی نتایج ضروری است.

میانگین نسبت غلظت اتانول خون به غلظت آن در ادرار، صفرا، زجاجیه و مغز استخوان قبلاً در مطالعات بسیاری بررسی شده است. تفاوت میزان غلظت الکل در خون در مقابل غلظت آن در صفرا و ادرار بسیار بیشتر از اختلاف میزان غلظت الکل خون در مقابل غلظت الکل زجاجیه و یا غلظت الکل در مغز استخوان است . به دلیل میزان بالای چربی در مغز استخوان و نیز به دلیل محلول بودن اتانول در آب و نه در چربی، اندازه‌گیری الکل در مغز استخوان به فاکتور تصحیح نیاز دارد. بنابراین مقادیراتانول تصحیح شده مغز استخوان واتانول زجاجیه یکنواخت تر بوده و برای مقایسه با اتانول خون مناسب-ترند.

در مقایسه با مغز استخوان، زجاجیه به راحتی قابل دسترس بوده و نیاز به آماده سازی خاصی قبل از انجام آنالیز ندارد. حدقه چشم بطور آناتومیک ایزوله بوده و بنابراین احتمال ایجاد بار میکروبی در زجاجیه بسیار ضعیف می‌باشد. به علاوه طبق گزارشات، مقدار اتانول زجاجیه در جسد بعد از فوت به مدت طولانی ثابت باقی خواهد ماند . در مقابل مقدار اتانول مغز استخوان پس از تصحیح، ارتباط خطی قوی در مقایسه با اتانول خون نشان می‌دهد(۱۹).

با توجه به مشکلات نمونه‌گیری از مغز استخوان، مزایا و سهولت دسترسی و آنالیز زجاجیه، در این گزارش ما زجاجیه را به عنوان نمونه مقابل خون انتخاب کردیم.

تفاوت میان یافته‌های بیوشیمیایی از زجاجیه دو چشم معنادار نیست. بنابراین چنانچه آزمایش بر روی یک چشم انجام شود مقدار به دست آمده برای هر دو چشم می‌تواند در نظر گرفته شود (۲۰ و ۲۱).

رسم نمودار حذف میانگین غلظت اتانول خون در برابر زمان، با استفاده از روش باقیمانده، معادله تک نمایی را نشان می‌دهد و از رسم این نمودار برای مایعات بدن و زجاجیه معادلهٔ دو نمایی به دست می‌آید.

بر اساس فارماکوکنیتیک اتانول در خون، دوزهای اندک اتانول، به روش‌های بیوترانسفرماسیون حذف شده و برای اشباع کردن آنزیم‌های دخیل در این پروسه کافی نیستند. بعد از مصرف مقادیر بالاتراتانول به دلیل اشباع شدن آنزیم‌های روند حذف، پارامترهای فارماکوکنیتیکی متفاوتی برای افراد به دست می‌آید. با وجود این که در مصرف مقادیر بالای الکل پارامترهای بیشتری از جمله خصوصیات فیزیولوژیک بدن فرد در پروسه حذف دخیلند اما نیمه عمر حذفی اتانول درخون ، مایعات بدن و زجاجیه مشابه است. (۳۲ دقیقه، ۳۵ دقیقه و ۳۳ دقیقه). حجم ظاهری توزیع الکل lit/kg ۱/۷۵ تخمین زده می شود. همین نتیجه در انسان پس از تجویز آنالوگ های اتانول نیز بدست می آید.

انتقال سریع اتانول از پلاسما به مایعات چشمی، احتمالاً به دلیل وزن مولکولی پایین آن و تمایل شیمیایی اتانول برای برخی اجزاء خاص این مایعات است (حلالیت بالای الکل در آب). مقدار اتانول در مایعات بدن و زجاجیه بعد از ۳۰ دقیقه از سطح اتانول خون بالاتر خواهد بود(۲۲). پس انتظار می‌رود در شرایط معمول همواره اتانول زجاجیه بیشتر از خون باشد.

با توجه به موارد ذکر شده، وجود اتانول در خون تنها با حضور همزمان این ماده در زجاجیه یا مایع بیولوژیک دیگری مانند ادرار تأیید می‌شود. بنابراین نمونه‌ای به صورت مثبت قابل گزارش است که که اتانول هم در خون و هم در زجاجیه مثبت باشد(۲۳).

در نمونه‌های کار شده در این تحقیق، ۱۴۲ نمونه دارای غلظت اتانول زجاجیه صفر در مقابل اتانول مثبت در خون بودند. متوسط غلظت اتانول در خون برای این نمونه‌ها mg/dLit ۱۹/۲ بوده که به طور معمول در گزارشات تعیین علت فوت این مقدار به عنوان منفی در نظر گرفته می‌شود.

بنابراین برای بالاتر بردن صحت آزمایش، این نمونه‌ها از معادله رگرسیون حذف شدند و منحنی رگرسیون با سایر داده‌ها ترسیم گردید. مطالعات زیادی در این زمینه، دلایل مختلفی را برای توجیه بروز این موارد توصیف کرده‌اند.

احتمال تولید یا کاهش میزان اتانول خون، در زمانی که غلظت اتانول در نمونه‌های اجساد بررسی می‌شود، یک معضل همیشگی بوده است. در شرایط مختلف، ممکن است روزها، هفته‌ها یا ماه‌ها بگذرد تا یک جنازه یافت شود و کالبد گشایی صورت گیرد. در مواردی که فاصله زمانی زیادی بین مرگ تا کالبد گشایی وجود داشته باشد، وضعیت بدنی و اینکه آیا مرگ در اثر عفونت باکتریایی بوده است یا خیر، بر میزان و سرعت توزیع باکتری‌ها از دستگاه گوارش به بافت‌های مجاور تأثیر دارد.همچنین غلظت گلوکز درخون پس از فوت افزایش می‌یابد و این قند به احتمال زیاد، ساده‌ترین پیش ساز سنتز میکروبی اتانول است(۱).

زوموالت و همکاران (ZumWalt et al) در مطالعهٔ خود بر روی اجساد متلاشی شده، این طور عنوان کردند که اگر اتانول در نمونه خون وجود داشته باشد، اما در سایر مایعات بدن یافت نشود، این اتانول به وسیله متابولیسم میکروبی در داخل بدن و بعد از فوت فرد ایجاد شده است. از طرفی، مطابق السن و فلبای(Olsen &) Felby، بهترین توضیح برای سطح بالاتر اتانول درخون نسبت به زجاجیه مرگ سریع بعد از مصرف الکل و نتیجتاً عدم داشتن زمان کافی برای انتشار الکل از خون به زجاجیه می‌باشد(۲۴).

نظریه السن و فلبای (Felby، Olsen) در خصوص امکان وجود نداشتن فرصت کافی برای انتشار اتانول از خون به زجاجیه در نمونه‌های این مطالعه با توجه به بررسی پرونده‌های نمونه‌های مشکوک، غیر قابل قبول بنظر می‌رسد. بنابراین قویترین احتمال بروز آلودگی میکروبی است.

میکروارگانیسم‌های که نمونه‌های اجساد را آلوده می‌کنند، میکروارگانیسم‌های شایع موجود در طبیعت هستند بنابراین نمونه می‌تواند در زمان نمونه‌گیری یا قبل از آن آلوده شود.

سدیم فلوراید، یک مهارکننده آنزیم‌های گلیکولتیک می‌باشد. این ماده درجلوگیری از لخته شدن جذب گلوکز و نیز جلوگیری از فساد نمونه‌های خون نقش دارد. چنانچه به نمونه‌ها۱-۲ درصد سدیم فلوراید اضافه شود. اتانول یا n - پروپانل تولید نخواهد شد(۲۵). بنابراین کنترل نمونه از نظر صحت میزان سدیم فلوراید اضافه شده، ضروری به نظر می‌رسد.

از طرفی چنانچه در نمونه‌های حذف شده از معادله رگرسیون دیده می‌شود، به دلیل فاصله زمانی زیاد میان فوت فرد و انجام کالبدگشایی و نمونه‌برداری و نیز فاصله میان فوت تا انجام آزمایش احتمال ایجاد بار میکروبی و متعاقباً تولید اتانول با وجود استفاده از سدیم فلوراید به عنوان ماده محافظ، فرضیه‌ای قوی بنظر می‌رسد. به همین دلیل پیشنهاد می‌شود آزمایشات میکروبیولوژی بر روی تعدادی از نمونه‌ها انجام شده و نتایج در تفسیر نتایج بدست آمده از آنالیز کمی نمونه مورد استفاده قرار گیرد. طبق این مطالعات، احتمال ایجاد بار میکروبی و تولید اتانول در نمونه‌های خون به طور قوی مطرح می‌شود. بنابراین موارد دارای میزان الکل زجاجیه صفر، اما خون مثبت قابل توجیه است. توجه به زمان گذشته بین مرگ فرد تا نمونه-برداری و نیز انجام آزمایش این نظریه را تأیید می‌کند.

در بین داده‌ها، ۳ نمونه وجود دارد که دارای غلظت اتانول مثبت در زجاجیه و اتانول خون صفر می‌باشند.این ۳ نمونه نیز از شرکت در رسم منحنی رگرسیون حذف شدند، وجود اتانول بایستی به‌طور هم زمان در خون و مایع زجاجیه قابل تشخیص باشد. این مورد در مطالعات انجام شده دیده نشده بود. ما احتمال دادیم به دلیل انجام روش تقطیر قبل از انجام آنالیز نمونه‌های خون، اتانول از دست رفته باشد یا محل نمونه‌گیری مناسب نبوده و خون از کیفیت مناسبی برخوردار نبوده است. این مسئله می-تواند به دلیل نحوه انجام کار و تفاوت نحوه آنالیز خون و زجاجیه بوجود آمده باشد. چنانچه در توضیح روش کار ذکر شد، اندازه‌گیری اتانول زجاجیه به روش تزریق مستقیم آن به دستگاه و سپس محاسبه غلظت با مقایسه با منحنی استاندارد تزریق شده می‌باشد. در صورتی که آنالیز نمونه‌های خون نیازمند آماده سازی به روش تقطیر قبل از

تزریق به دستگاه می‌باشد. احتمال دارد در روند انجام پروسه تقطیر، مقداری از اتانول نمونه از دست برود.

پیشنهاد می‌شود جهت یکسان سازی روش انجام کار و برای بالا بردن دقت نتایج گزارش شده، نمونه‌های خون و زجاجیه هر دو به روش تزریق به‌وسیله دستگاه head space آنالیز شوند تا صحت نتایج اعتبار بالاتری داشته باشند و احتمال خطا به حداقل برسد.

بنابراین تعداد نمونه‌ها به ۲۰ مورد کاهش یافت. برای این موارد، نسبت غلظت اتانول خون (mg%) به غلظت اتانول زجاجیه(mg%)، برای هر نمونه محاسبه گردید. میانگین این نسبت محاسبه شده و برای بدست آوردن معادله‌ای جهت تبدیل این دو غلظت به یکدیگر به کار رفت. ضریب بدست آمده از این مطالعه ۰/۵± ۰/۷۴ بوده که محدوده‌ای از ۰/۲۵ تا ۲/۱ را شامل می‌شود.

در مطالعه‌ای که، سئوال تخمین میزان اتانول خون از میزان اتانول زجاجیه برای اولین بار بوجود آمد نویسنده عنوان کرد که در اجساد میزان اتانول خون راتحت شرایطی می توان از معادله BAC=0/73×VHAC بدست آورد (۱۷).

صحت این معادله ساده توسط کُو و شرمن (Coe & Sherman) تقویت شد. آنها با آنالیز رگرسیون بر روی ۱۷۴ نمونه نشان دادند که بهترین فاکتور برای تبدیل غلظت اتانول زجاجیه به غلظت اتانول خون با صحت ۹۵ درصد، مقدار عددی (۰/۲۳±۰/۸۹) می‌باشد(۲۶).

چنانچه توضیح داده شد به دلیل تمایل بیشتر اتانول به زجاجیه در مقایسه با خون با وجود دارا بودن نیمه عمر حذف تقریباً یکسان، بالاتر بودن غلظت اتانول در زجاجیه به نسبت غلظت اتانول در خون امری طبیعی است. مطالعات مختلف ضرایب مختلفی را برای تبدیل غلظت اتانول زجاجیه، مقدار غلظت اتانول خون بدست آورده‌اند. اما این ضرایب محدوده خاصی را در تمامی این مطالعات در بر می‌گیرد.

چنگ چائو(cheng chao) در مقاله خود این ضرائب را در جدول زیر (جدول ۳) خلاصه کرده است (۲۷).

در این پژوهش ضریب مربوط به تخمین میزان الکل خون با اندازه گیری الکل زجاجیه مشابه با آزمایشات انجام شده قبلی بود.

نگارنده مجدداً بر لزوم انجام آزمایش بر روی الکل جهت تأیید وجود الکل در خون، به دلیل امکان بروز آلودگی در نمونه‌های خون تاکید می‌کند. تعداد بالای نمونه‌های دارای الکل در خون اما زجاجیه منفی، لزوم بهبود روند نمونه‌گیری، نگهداری نمونه‌ها و حمل و نقل آنها را مشخص می‌کند. همچنین پیشنهاد می شود برای اندزه‌گیری الکل از دستگاه HeadSpace استفاده شود.

جهت بررسی‌های تکمیلی می‌توان اثر گذشت زمان بر تولید الکل در خون را بررسی کرد و از مارکرهایی جهت افتراق ایجاد الکل بعد از فوت استفاده شود.

جدول 3: ضرائب محاسبه شده در مطالعه چنگ چائو

Study (ref)	No. of cases	Average		
		Without phase distinction	Early absorption phase	Late absorption and elimination phases
Category 1 (this work)	28	–	1.21 ± 0.45 (0.84–3.07)	–
	57	–	–	0.84 ± 0.15 (0.43–1.21)
Category 2 (this work)	48	–	1.34 ± 0.63 (0.71–3.71)	–
	67	–	–	0.94 ± 0.20 (0.32–1.28)
Categories 1 and 2 combined (this work)	76	–	1.29 ± 0.57 (0.71–3.71)	–
	124	–	–	0.89 ± 0.19 (0.32–1.28)
Felby and Olsen (4)	25	–	–	0.74 ± 0.11 (0.55–0.95)
Caughlin (9)	20	–	–	0.82 ± 0.05
Yip and Shun (12)	34	–	1.09 ± 0.38 (0.69–2.42)	–
	51	–	–	0.80 ± 0.09 (0.66–1.01)
Backer et al. (14)	110	0.95 (0.58–2.08)	–	–
	23	–	1.12	–
	37	–	–	0.84
Winek and Esposito (5)	31	0.94 ± 0.17 (0.68–1.52)	–	–
Leahy et al. (6)	20	0.93 ± 0.07 (0.81–1.13)	–	–
Coe and Sherman (7)	174	0.89 ± 0.02	–	–
Stone and Rooney (10)	44	0.77 (blood ethanol >100 mg/dl)		
	33	0.63 (blood ethanol <100 mg/dl)		
Neil et al. (11)	75	0.81 (0.55–1.39)	–	–
Caplan and Levine (13)	205	0.85 (0.52–4.0)	–	–

قدردانی

از زحمات کلیه کارشناسان آزمایشگاه پزشکی قانونی استان فارس که در انجام آزمایش‌ها و جمع‌آوری داده‌ها به ما کمک کردند سپاسگذاریم.

منابع

1-Kugelberg FC, Jones AW. Interpreting results of ethanol analysis in postmortem specimens: a review of the literature. Forensic Sci Int 2007;165(1):10–29.
2-Clark JC. Sudden death in the chronic alcoholic. Forensic Sci Int 1988;36(1-2):105–11.
3-Hansen AU, Simonsen J. The manner and cause of death in a forensic series of chronic alcoholics. Forensic Sci Int 1991;49(2):171–8.
4-Crombie IK, Pounder DJ, Dick PH. Who takes alcohol prior to suicide? J Clin Forensic Med 1998;5(2):65–8.
5-Bilban M, Skibin L. Presence of alcohol in suicide victims. Forensic Sci Int 2005 Suppl;147: S9–12.
6-Jonsson A, Holmgren P, Ahlner J. Fatal intoxications in a Swedish forensic autopsy material during 1992–2002. Forensic Sci Int 2004;143(1):53–9.
7-Borges G, Cherpitel CJ, MacDonald S, Giesbrecht N, Stockwell T, Wilcox HC. A case-crossover study of acute alcohol use and suicide attempt. J Stud Alcohol 2004;65(6):708–14.
8-Girasek DC, Gielen AC, Smith GS. Alcohol's contribution to fatal injuries: a report on public perceptions. Ann Emerg Med 2002;39(6):622–30.
9-Flanagan RJ, Connally G. Interpretation of analytical toxicology results in life and at postmortem.Toxicol Rev 2005;24(1):51–62.
10-Cook DS, Braithwaite RA, Hale KA. Estimating antemortem drug concentrations from postmortem blood samples: the influence of postmortem redistribution . J Clin Pathol 2000;53(4):282–5.
11-Yarema MC, Becker CE. Key concepts in postmortem drug redistribution.Clin Toxicol (Phila) 2005;43(4):235–41.
12-De Martinis BS, Martin CC. Automated headspace solid-phase microextraction and capillary gas chromatography analysis of ethanol in postmortem specimens. Forensic Sci Int 2002;128(3):115–19.
13-Hardin GG. Postmortem blood and vitreous humor ethanol concentrations in a victim of a fatal motor vehicle crash. J Forensic Sci 2002;47(2):402–3.
14-Gagajewski A, Murakami MM, Kloss J, Edstrom M, Hillyer M, Peterson GF, et al. Measurement of chemical analytes in vitreous humor: stability and precision studies. J Forensic Sci 2004;49(2):371–4.

15-Mulla A, Massey KL, Kalra J. Vitreous humor biochemical constituents: evaluation of between-eye differences. Am J Forensic Med Pathol 2005;26(2):146–9.
16-Madea B, Rodig A. Time of death dependent criteria in vitreous humor:accuracy of estimating the time since death. Forensic Sci Int 2006;164(2-3):87–92.
17-Pounder DJ, Kuroda N. Vitreous alcohol is of limited value in predicting blood alcohol. Forensic Sci Int 1994;65(2):73-80.
18-Maeda H, Zhu BL, Ishikawa T, Oritani S, Michiue T, Li DR, et al . Evaluation of post-mortem ethanol concentrations in pericardial fluid and bone marrow aspirate. Forensic Sci Int 2006;161:141–143
19-Winek CL , Esposito FM. Comparative study of ethanol levels in blood versus bone marrow, vitreous humor, bile and urine. Forensic Sci Int 1981;17(1):27–36.
20- Thierauf A, Musshoff F, Madea B. Post-mortem biochemical investigations of vitreous humor. Forensic Sci Int 2009;192(1-3):78–82.
21-Fazilati M, Iravani O, Ghadyani MH. Survey of comparative surface concentration liquid ethanol in vitreous eyes right and left in Legal Medicine Isfahan during 2006. Scientific Journal of Forensic Medicine 2008;13(4):241-248. [In Persian]
22-Fernandez P, Lopez-Rivadulla M, Linares JM, Tato F, Bermejo AM. A comparative pharmacokinetic study of ethanol in the blood, vitreous humour and aqueous humour of rabbits. Forensic Sci Int 1989;41(1-2):61-5.
23-Barry L. Principle of Forensic Toxicology. 2nd ed. : American Association for Clinical Chemistry; USA; 2003. P. 10.
24-Harper DR. A comparative study of the microbiological contamination of postmortem blood and vitreous humour samples taken for ethanol determination. Forensic Sci Int 1989;43(1):37– 44.
25-Yajima D, Motani H, Kamei K, Sato Y, Hayakawa M, Iwase H. Ethanol production by Candida albicans in postmortem human blood samples: effects of blood glucose level and dilution. Forensic Sci Int 2006;164(2-3):116–21.
26-Pounder DJ, Kurodab N. Vitreous alcohol is of limited value in predicting blood alcohol. Forensic Sci Int 1994;65(2):73-80.
27-Chao TC, Lo DS. Relationship between postmortem blood and vitreous humor ethanol levels. Am J Forensic Med Pathol 1993;14(4):303-8.

Post Mortem Blood and Vitreous Humor Ethanol Levels Relation in Fars Legal Medicine Center

Aria Hejazi [1*], Maryam Hosseini [2], Afroz Nikbakht [3], Tahereh Tarian [4], Gholam Reza Naseri [5], Hamid Reza Ghorbani [6], Hamid Nazmi [7]

1-Specialist in Forensic Medicine
2-Pharm D.
3-Immunology M.S Degree.
4-Chemistery M.S Degree.
5-Medical Laboratory Science B.S Degree.
6-Assistant Professor, Forensic Medicine Group.
7-General Practitioner

1,2,3,4,5,7-Legal Medicine Research Center, Legal Medicine Organization,Tehran, Iran.
6-Forensic Medicine group, School of Medicine, Jundishpur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

**Corresponding author:*
Aria Hejazi; Legal Medicine Research Center, Legal Medicine Organization,Tehran, Iran.
Tel:+989171135993
Email: arya_hedjazi@yahoo.com

Abstract

Background and Objective: The concentration of ethanol measured in postmortem blood needs to be interpreted as to whether the person who had consumed alcohol has exceeded some threshold limit. However, interpreting postmortem BAC (Blood Alcohol Concentration) results and drawing correct conclusions about ante mortem levels is fraught with difficulties as under some circumstances alcohol might be produced after death by microbial activity.

Subjects and Methods: In the case of ethanol, the blood samples should be taken from a femoral vein and whenever possible additional specimens, such as urine and vitreous humor (VH), should also be obtained and sent for analysis to be able to have the best interpretation

Results: 167 Specimens of femoral vein blood and vitreous humor were analyzed. In this study, direct injection and gas-chromatographic techniques were employed to quantitate the ethanol concentrations. These two concentrations were then compared and the BAC/VHAC (Viterous Humor Alcohol Concentration) ratio was evaluated.

Among these specimens, there were 142 cases in which we have found ethanol in blood but not in vitreous humor. Also we have found 2 cases by positive VHAC but negative BAC. The average blood ethanol concentration was 61.5 mg/dLit while the average ethanol vitreous humor concentration was 127 mg/dLit. However, the ratio was measured as 0.7.

Conclusion: The similarity in the results of the post mortem cases reinforces the assertion that co analysis of vitreous humor and blood is important to interpret post mortem results.

Keyword: Ethanol, Vitreous Humor, Blood.

►*Please cite this paper as:*
Hejazi A, Hosseini M , Nikbakht A, Tarian T, Naseri GhR, Ghorbani HR, Nazmi H. Post Mortem Blood and Vitreous Humor Ethanol Levels Relation in Fars Legal Medicine Center. Jundishapur Sci Med J 2012;11(5):565-576

Received: Aug 15, 2011 **Revised: May 19, 2012** **Accepted: June 12, 2012**