



THE INFLUENCE OF PHARMACOLOGICAL TREATMENT DIRECTLY PRIOR TO DEATH ON THE FORMATION OF ENDOGENOUS ETHYL ALCOHOL

Krzysztof MAKSYMOWICZ¹, Maria KAŁA², Ewa JAZWIŃSKA-TARNAWSKA³,
Magdalena HURKACZ³

¹ Chair and Department of Forensic Medicine, Medical University, Wrocław

² Institute of Forensic Research, Cracow

³ Chair and Department of Clinical Pharmacology, Medical University, Wrocław

Abstract

Analysis of blood and urine samples collected during the autopsy of a 14-year-old girl, treated for 12 hours after a road accident at the Intensive Care Unit, showed the presence of 0.9‰ ethyl alcohol in blood, but none in urine. Moreover, the possibility of the child consuming alcohol before death was practically excluded during an investigation of the accident circumstances. A blood sample was collected 24 hours after death, the body having been stored under refrigeration during this time, which protected against post-mortem changes. The result, indicating the presence of ethyl alcohol in blood, had legal consequences in the settlement of who had caused the accident, and hence who had civil responsibility. In this paper, the authors analysed the treatment of the young female patient immediately before death with the aim of establishing the mechanism of formation of ethyl alcohol in the blood of the deceased child. The results of the case analysis and performed experiments showed that most probably the presence of ethyl alcohol in the blood of the deceased was caused by *post-mortem* decomposition changes of one of the pharmacological substances used in the treatment – hydroxyethyl starch (HES). This is a preparation substituting for blood plasma (serum) in intensive treatment, “topping up” the volume of the vascular bed.

Key words

Pharmacological treatment; Hydroxyethyl starch; Endogenous ethyl alcohol.

Received 15 December 2005; accepted 30 December 2005

1. Introduction

Determination of ethyl alcohol, especially by chromatographic methods, in organism fluids collected from live persons and post-mortem materials – even those that have undergone putrefactive breakdown – yields accurate results. Interpretation of results of alcohol determination in samples collected from live persons is easy. In the case of analysis of *post-mortem* materials, it is very complicated: sometimes it is even

impossible to confirm or exclude alcohol consumption before death. This is caused by many “criss-crossing” factors, namely: *post-mortem* formation of ethyl alcohol by micro-organisms, diffusion of residues of alcohol from the digestive tract, especially from the stomach, a lack of or incomplete information concerning the clinical state of the deceased person just before death. In *post-mortem* material, ethanol may have exo- or endogenous origin. Endogenous ethanol may arise in blood decaying in a corpse or in blood, which de-

cays in vitro. Glucose is the main substrate for formation of endogenous alcohol. Earlier research indicated that if the starting glucose concentration in blood did not exceed the upper limit of physiological concentrations, then the produced amount of alcohol was almost equal to the stoichiometric amount of glucose in the blood. This relation was not observed for higher glucose concentrations. If glucose was added in the course of blood decay, then the concentration of endogenous alcohol visibly increased [3]. It is now common knowledge that formation of endogenous alcohol is not so simple. The mere course of agony can cause a significant decrease in glucose concentration in the blood. In order for endogenous alcohol to be formed, some bacteria have to accompany glucose, or to be more precise, pyruvates that have arisen as a result of glycolysis in oxygen-free conditions. There are 58 species of bacteria and 17 species of yeast that may produce ethanol [7]. Production of ethyl alcohol with participation of bacteria is accompanied by production of other volatile compounds such as methyl alcohol, formaldehyde, n-propyl alcohol, acetone, acetic aldehyde, n-butyric and iso-butyric acids.

It is important to know the circumstances of the accident and results of analysis of vitreous humour and urine in order to determine whether the detected ethanol was produced after death or was consumed before. Vitreous humour is chosen because it is well protected against infiltration by ethanol produced by putrefactive bacteria. Urine is useful because it usually does not contain, or only contains too small quantities of, the substrate (glucose) used by bacteria to create ethanol. Therefore, ethanol concentration in an individual *post-mortem* blood sample is usually impossible to interpret without parallel determination of ethanol in vitreous humour, urine, and also information collected at the site of death and knowledge of the accident circumstances.

Glucose is not the only substrate from which endogenous ethanol can be produced. Many other endogenous compounds, such as lactates, mannitol, galactose, maltose and lactose may act as substrates. It has been shown that taking mannitol just before death may facilitate production of post-mortem methanol, n-propanol, iso-propanol and n-butanol [2].

In order to reach a decision concerning a case that is difficult to interpret, in which the presence of ethanol in blood and its absence in urine has been indicated, verification of the following hypothesis was undertaken – could pharmacological substances taken when the person was alive have increased the alcohol concentration in blood?

Hydroxyethyl starch (HES), a semi-synthetic polysaccharide, was among the administered substances. Hydroxyethyl groups are bound to glucose by ether bonds in this compound. There are 7–8 hydroxyethyl groups for every 10 particles of glucose. The average molecular weight of this compound is ca. 450,000 (10,000–2,500,000). Particles with 1000–1,000,000 mass units constitute 90%. HES is excreted by kidneys and with bile. Particles with molecular weights below 50,000 are rapidly excreted by kidneys. About 40% of particles of this size appear in urine within 24 hours. Larger molecules are metabolised to smaller ones and they are distributed to organism tissues, where they are hydrolysed with co-participation of the system of endoplasmatic reticulum or alpha-amylase. On average, 90% of an administered dose is eliminated from the organism in the course of 17 days; however, sometimes this period can be prolonged up to as much as 48 days. The biological half-life of HES administered in the form of various preparations (6% solutions in isotonic solution of NaCl) is, at 30%, ca. 67 h, at 18%, 2 h, and at 17%, 8.5 h [1, 4, 5, 8, 9, 12].

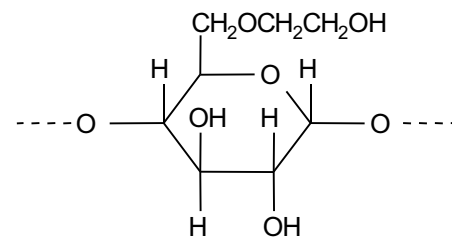


Fig. 1 [4]. The structural formula of hydroxyethyl starch (HES).

Until now, much attention has been paid to HES because of its influence on volume of circulating blood and clotting processes. The metabolism of HES to smaller polymer particles and free glucose has aroused the interest of individual scientists. It was shown, when a group of 100 non-diabetic patients were analysed, that taking a dose of 6% Hetastarch-450 and 6% Pentastarch-200 before spinal anaesthesia caused a statistically significant increase in glucose concentration in blood in comparison to a 50-patient group that took Ringer Solution. The increase in glucose concentration, by a maximum of about 38 mg/dl, did not cause normal values to be exceeded, i.e. they remained within the range of physiological concentrations [6].

2. Case description

A 14-year-old girl who did not drink alcohol, was healthy and without metabolic and hormonal disturbances, left home where she had been spending time with her parents. She was run over by a car after several minutes. The site and circumstances of the accident practically excluded the possibility that the child could have drunk alcohol in any form between leaving home and the accident.

Because of injuries sustained during the accident she was transported to the Emergency Ward, Municipal Hospital in Wrocław. Her general condition was diagnosed as extremely critical; she was unconscious, with circulatory and respiratory insufficiency, at the moment of admission, she suffered a cardiac arrest. Cardiac activity resumed after reanimation.

The performed diagnoses allowed us to ascertain comminuted fractures of calvaria and skull with presence of intracerebral haemorrhage. The patient was disqualified from neurosurgical treatment because of her extremely serious general condition.

Because surgery was not undertaken, the patient was left in the Intensive Care Unit, where pharmacological treatment was continued. Breathing by respirator was applied, blood and infusion fluids were administered, and catecholamines were continuously given intravenously.

In particular, 6% HES 500, 0.9% NaCl, multi-electrolyte fluid, MgSO₄, Dopamine, Levonor and Ringer Solution were used in the treatment. The glucose concentration in the blood when the patient was alive was 95 mg/dl.

In spite of the applied treatment, the child's condition systematically deteriorated and the circulatory insufficiency intensified. After 12 hours of treatment in hospital, a sudden asystolic cardiac arrest occurred, followed by death.

0.9‰ ethyl alcohol in blood and absence in urine was determined by the performed toxicological analysis of blood taken from the thigh vein and urine from the corpse, using the ADH-TDx enzymatic method and gas chromatography [10, 11].

In searching for causes of these phenomena, the following hypothesis was tentatively put forward: that the presence of ethyl alcohol in the blood of the deceased was the result of decomposition changes of one of the substances used in the pharmacological treatment – HES. In view of the chemical structure of this compound, it is probable that endogenous alcohol fermentation could have occurred in the described case.

3. Experimental research

The following experiments were carried out in vitro with the aim of testing the preliminary hypothesis. Three blood samples collected from three different persons constituted the studied material: sample A – autopsy blood collected from a child who died by violence, B – autopsy blood collected from a man who died by violence, C – blood collected under sterile conditions from a healthy live volunteer. Each blood sample, immediately after collection, was analysed for the presence of ethyl alcohol by the ADH-TDx method. The following results were obtained: A – 0.0‰, B – 0.67‰ and C – 0.0‰.

Next, each of the 3 initial blood samples (A, B, C) was divided into 6 parts, thus obtaining samples A1–6, B1–6, C1–6, which were stored under different temperature conditions for 6 days with or without addition of the compounds mentioned below. Samples A, B and C:

1. stored at room temperature (ca. +20°C);
2. stored in a refrigerator (+4°C);
3. immediately after division and addition of HES, stored at room temperature;
4. immediately after division and addition of HES, stored in a refrigerator;
5. immediately after division and addition of HES, stored at room temperature, and after 24 hours, sodium fluoride (NaF) was added and then it was further stored at room temperature;
6. immediately after division and addition of HES stored in a refrigerator, and after 24 hours sodium fluoride (NaF) was added and then it was further stored in a refrigerator.

4. Results

Addition of HES to collected samples and after that addition of NaF after 24 hours and storage of samples for 6 days simulated the conditions undergone by the blood of the deceased child, i.e. the subject of the expert report (case-work). The concentration of ethyl alcohol in each of these samples was determined after 6 days of storage (Table I and II) by the ADH-TDx method.

Moreover, the concentration of ethyl alcohol in the blood of the child, the subject of the expert report, collected during the *post-mortem* examination, was again determined after 5 months. The determined ethyl alcohol concentration was 1.3‰.

The obtained results indicated that the concentrations of alcohol in all three blood samples that were stored in the fridge did not change and hence were sim-

TABLE I. ETHYL ALCOHOL CONCENTRATIONS IN BLOOD SAMPLES AFTER 6 DAYS OF STORAGE AT ROOM TEMPERATURE (ABOUT +20°C)

No.	Blood sample	Addition		Alcohol concentrations [%]
		HES	NaF	
A1	Autopsy blood collected from child who died by violence	–	–	0.0
B1	Autopsy blood collected from man who died by violence	–	–	0.86
C1	Sterilely collected blood from live volunteer	–	–	0.0
A3	Autopsy blood collected from child who died by violence	+	–	0.69
B3	Autopsy blood collected from man who died by violence	+	–	0.68
C3	Sterilely collected blood from live volunteer	+	–	0.0
A5	Autopsy blood collected from child who died by violence	+	+	0.54
B5	Autopsy blood collected from man who died by violence	+	+	0.69
C5	Sterilely collected blood from live volunteer	+	+	0.0

“–” – non-addition; “+” – addition.

TABLE II. ETHYL ALCOHOL CONCENTRATIONS IN BLOOD SAMPLES AFTER 6 DAYS OF STORAGE IN A REFRIGERATOR (+4°C)

a	Blood sample	Addition		Alcohol concentrations [%]
		HES	NaF	
A2	Autopsy blood collected from child who died by violence	–	–	0.0
B2	Autopsy blood collected from man who died by violence	–	–	0.67
C2	Sterilely collected blood from live volunteer	–	–	0.0
A4	Autopsy blood collected from child who died by violence	+	–	0.0
B4	Autopsy blood collected from man who died by violence	+	–	0.52
C4	Sterilely collected blood from live volunteer	+	–	0.0
A6	Autopsy blood collected from child who died by violence	+	+	0.0
B6	Autopsy blood collected from man who died by violence	+	+	0.56
C6	Sterilely collected blood from live volunteer	+	+	0.0

“–” – non-addition; “+” – addition.

ilar to the starting values. It is a well known fact that storage of biological material at a low temperature delays decay processes. Multiplication of bacteria as well as activity of enzymes is dependent on temperature. Therefore, cooling slows down the production of endogenous alcohol in *post-mortem* material. Thus, a 6-day period was too short under these conditions of storage for putrescent and decomposition changes to occur in a matrix of *post-mortem* blood from a child, and (all the more so) in a blood sample collected in sterile conditions from a live volunteer. The concentration of alcohol in blood collected from the dead man

was the result of consumption of alcohol before death, which was confirmed by analysis of urine and vitreous humour.

Maintaining aseptic conditions when a blood sample is collected from a healthy man, protect against putrescent and decomposition processes even at room temperature. Therefore, alcohol was not formed from added HES. Bacteria and micro-organisms that arise during decay of *post-mortem* material can both produce alcohol and use it up. Therefore, a high starting concentration of alcohol in biological material could be reduced during storage due to the activity of bacte-

ria, and a starting low concentration could increase. In the blood sample collected from the man who died by violence, the concentration of alcohol after addition of HES and HES with NaF and storage for 6 days at room temperature was ca. 20% lower than the starting concentration. The decrease in ethyl alcohol concentration in this sample could have been caused by putrescent and decomposition processes in the blood sample. In the *post-mortem* blood sample collected from the child, which was free of alcohol at the beginning, alcohol was determined after addition of HES and HES with NaF as an inhibitor of bacterial development. Therefore it can be stated that room temperature accelerated the multiplication of bacteria and micro-organisms in this blood. They caused the breakdown of HES, as a result of which alcohol was formed.

5. Conclusions

An analysis of the pharmacological treatment of the child patient and also results of the performed analysis allowed us to draw the following conclusions:

1. There is a justified suspicion that the pharmacological agent applied during the treatment of the child had an influence on the ethyl alcohol concentration in the blood: it increased its value.
2. In the presented case, one of the preparations used was hydroxyethyl starch (HES). This substance is broken down to monosaccharides with the participation of amylase – monosaccharides, in turn, may cause *post-mortem* metabolic transformations to ethyl alcohol.
3. HES added to a blood sample collected during a *post-mortem* examination, which was free of alcohol at the beginning, stored at room temperature, underwent changes as a result of which ethyl alcohol was formed (experiment *in vitro*).
4. NaF – a substance which prevents multiplication of micro-organisms – does not slow down alcoholic fermentation at room temperature.
5. Addition of NaF to a blood sample and its immediate storage at refrigerator temperature is required for inhibition of alcohol fermentation in *post-mortem* blood.
6. Ethyl alcohol was not formed in a blood sample collected under sterile conditions from a live volunteer, despite addition of HES and storage of sample at room temperature.
7. In the analysed case, the fermentation process of HES in blood did not slow down even after addition of a preservative and its storage at refrigerator temperature.

References

1. Jacobi A., Stoll R. G., Sum C. Y. [et al.], Pharmacokinetics of hydroxyethyl starch in normal subjects, *Journal of Clinical Pharmacology*, 1982, 22, 206–212.
2. Jones A. W., Andersson R., Sakshaug J. [et al.], Possible formation of ethanol in postmortem blood specimen after antemortem treatment with mannitol, *Journal of Analytical Toxicology* 1991, 5, 157–158.
3. Kała M., Chudzikiewicz E., The influence of post-mortem changes in biological material on interpretation of toxicological analysis results, *Problems of Forensic Sciences* 2003, 54, 32–59.
4. Maj S., *Farmakologia krwi i układu krwiotwórczego. Preparaty krwi. Leki krwiozastępcze*, [w:] *Farmakologia. Podstawy farmakoterapii*, Kostowski W. [red.], PZWL, Warszawa 1998.
5. Martindale. The extra pharmacopoeia, Sweetman S. C. [ed.], Pharmaceutical Press, London 2005.
6. Murty S. S., Kamath S. K., Chaudhari L. S., Effects of hydroxyethyl starches on blood sugar levels: a randomized double blind study, *Indian Journal of Anaesthesia* 2004, 48, 196–200.
7. O'Neal C. L., Poklis A., Postmortem production of ethanol and factors that influence interpretation: a critical review, *American Journal of Forensic Medicine and Pathology* 1996, 17, 8–20.
8. Physicians' Desk Reference, Medical Economics Company, Montvale 2000.
9. Podlewski J. K., Chwalibogowska-Podlewska A., *Leki współczesnej terapii*, Split Trading, Warszawa 2003/2004.
10. Shaffar M., Stroupe S. D., A general method for routine clinical chemistry on the Abbott TDx analyzer, *Clinical Chemistry* 1983, 29, 1251.
11. Stiles D., Batsakis J. G., Kremers B. [et al.], The evaluation of ethanol measurements with alcohol dehydrogenase, *American Journal of Clinical Pathology* 1966, 46, 608.
12. Wilkes N. J., Woolf R. L., Powanda M. C. [et al.], Hydroxyethyl starch in balanced electrolyte solution (Hextend) – pharmacokinetic and pharmacodynamic profiles in healthy volunteers, *Anaesthesia and Analgesia* 2002, 94, 538–544.

Corresponding author

Krzysztof Maksymowicz
Katedra i Zakład Medycyny Sądowej
Akademii Medycznej im. Piastów Śląskich
ul. J. Mikulicza-Radeckiego 4
PL 50-368 Wrocław
e-mail: maks@forensic.am.wroc.pl

WPŁYW LECZENIA FARMAKOLOGICZNEGO BEZPOŚREDNIO PRZED ZGONEM NA ENDOGENNE POWSTAWANIE ALKOHOLU ETYLOWEGO

1. Wprowadzenie

Oznaczanie alkoholu etylowego szczególnie metodami chromatograficznymi w płynach ustrojowych pobranych od osób żywych oraz materiale sekcyjnym, nawet gnilnie rozłożonym, dostarcza prawdziwych wyników. Interpretacja wyników oznaczania alkoholu w materiale pobranym od osób żywych jest łatwa. Jednak w przypadku materiału sekcyjnego staje się ona bardzo skomplikowana, a czasem wręcz niemożliwa w odniesieniu do potwierdzenia bądź wykluczenia konsumpcji alkoholu etylowego przed zgonem. Spowodowane jest to wieloma skomplikowanymi przyczynami, a mianowicie: pośmiertnym wytwarzaniem alkoholu etylowego przez mikroorganizmy, dyfuzją resztek alkoholu z przewodu pokarmowego, szczególnie z żołądka, brakiem lub nieścisłymi informacjami o klinicznym stanie zmarłej osoby tuż przed zgonem. W materiale sekcyjnym etanol może być pochodzenia egzo- i endogennego. Etanol endogenny może powstać we krwi rozkładającej się w zwłokach oraz we krwi rozkładającej się *in vitro*. Głównym substratem do wytwarzania alkoholu endogennego jest glukoza. Wcześniejsze prace wykazywały, że jeżeli początkowe stężenie glukozy we krwi nie przekraczało górnej granicy stężeń fizjologicznych, to wytworzona ilość alkoholu odpowiadała prawie stechiometrycznie ilości zawartej we krwi glukozy. Przy wyższych stężeniach glukozy takiej zależności nie stwierdzono. Jeżeli w toku gnicia krwi dodano do niej glukozę, to zawartość alkoholu endogennego wyraźnie wzrastała [3]. Obecnie wiemy, że powstawanie alkoholu endogennego nie jest takie proste. Przebieg agonii może spowodować znaczne obniżenie stężeń glukozy we krwi. Aby wytworzył się etanol endogenny glukozie, a ściślej pirogronianom powstałym w wyniku glikolizy zachodzącej w warunkach beztlenowych, muszą towarzyszyć niektóre bakterie. Istnieje 58 gatunków bakterii i 17 gatunków drożdży, które mogą produkować etanol [7]. Wytwarzaniu alkoholu etylowego z udziałem bakterii towarzyszy powstawanie innych lotnych związków, takich jak alkohol metylowy, formaldehyd, alkohol n-propylowy, aceton, aldehyd octowy, kwas n-masłowy i izo-masłowy.

W celu ustalenia, czy mamy do czynienia z pośmiertnie wytworzonym lub za życia przyjętym etanolem, istotne znaczenie posiadają okoliczności zdarzenia i potwierdzająca analiza ciała szklatego gałki ocznej oraz moczu. Ciało szkliste jest materiałem z wyboru, ponieważ jest lepiej zabezpieczone przed infiltracją etanolu wytworzonego przez bakterie gnilne. Mocz jest przydatny, bowiem zazwyczaj nie zawiera lub zawiera za

mało substratu (glukozy) do jego bakteryjnego przetworzenia do etanolu. Dlatego też stężenie etanolu w pojedynczej próbce krwi sekcyjnej jest zazwyczaj nie do zinterpretowania bez równoległego badania stężenia etanolu w ciałku szklistym oka, moczu, jak również informacji zebranych na miejscu zgonu i znajomości okoliczności zdarzenia.

Glukoza nie jest jedynym substratem do wytwarzania etanolu endogennego. Substratami takimi może być wiele innych endogennych związków, w tym mleczany, mannitol, galaktoza, maltoza i laktoza. Wykazano, że podanie mannitolu krótko przed zgonem może ułatwić wytwarzanie się pośmiertnego metanolu, n-propanolu, izopropanolu i n-butanolu [2].

Do rozstrzygnięcia trudnego do zinterpretowania przypadku, w którym wykazano obecność alkoholu etylowego we krwi przy jego nieobecności w moczu, podjęto weryfikację hipotezy, że środki farmakologiczne podane za życia nie mogły wpłynąć na zawyżenie stężenia alkoholu we krwi.

Jednym z podanych środków była hydroksyetyloskrobia (HES), półsyntetyczny wielocukier. W związku tym grupy hydroksyetylowe związane są z glukozą za pomocą wiązań eterowych. Na każde 10 cząsteczek glukozy przypada 7–8 grup hydroksyetylowych. Średnia masa cząsteczkowa związku wynosi około 450 000 (10 000–2 500 000). 90% to cząsteczki o masie 1000–1 000 000. HES wydalana jest drogą nerkową i z żółcią. Molekuły o masie cząsteczkowej poniżej 50 000 są szybko wydalane przez nerki. Około 40% cząsteczek tej wielkości pojawia się w moczu w ciągu 24 h. Większe molekuły są metabolizowane do mniejszych i ulegają dystrybucji do tkanek organizmu, gdzie są hydrolizowane przy współdziałaniu systemu siateczki endoplazmatycznej lub alfa-amylazy. Średnio 90% podanej dawki jest wydalane z organizmu w ciągu 17 dni, ale niekiedy czas ten może ulec wydłużeniu nawet do 48 dni. Biologiczny okres półtrwania HES podawanej w preparatach (6% roztwory w izotonicznym roztworze NaCl) wynosi w 30% około 67 h, w 18% 2 h, a w 17% 8,5 h [1, 4, 5, 8, 9, 12].

Dotychczas wiele uwagi poświęcono HES z powodu jej wpływu na objętość krwi krążącej i procesy krzepnięcia. Metabolizm HES do mniejszych polimerowych cząsteczek i wolnej glukozy wzbudził zainteresowanie pojedynczych badaczy. Udowodniono na grupie 100 pacjentów, nie chorujących na cukrzycę, że podanie 6% Hetastarch-450 i 6% Pentastarch-200 przed znieczuleniem rdzeniowym, spowodowało znamienne statystycznie zwiększenie stężenia glukozy we krwi w porównaniu z 50-osobową grupą takich pacjentów, którym podano

płyn Ringera. Wzrost stężenia glukozy, maksymalnie o 38 mg/dl, nie powodował jednak przekroczenia wartości normatywnych, czyli mieścił się w granicach stężeń fizjologicznych [6].

2. Opis przypadku

Dziewczynka lat 14, nie pijąca alkoholu, zdrowa, bez zaburzeń metabolicznych i hormonalnych, wyszła z domu, gdzie przebywała wraz z rodzicami. Po około kilkunastu minutach została potrącona przez samochód. Miejsce i okoliczności zdarzenia praktycznie wykluczają możliwość, aby dziecko pomiędzy opuszczeniem domu a wypadkiem spożyło alkohol w jakiegokolwiek postaci.

W wyniku odniesionych podczas wypadku obrażeń ciała dziewczynkę przetransportowano do Oddziału Intensywnej Opieki Medycznej Szpitala Miejskiego we Wrocławiu. Jej stan ogólny określono jako skrajnie ciężki; była nieprzytomna, niewydolna krążeniowo i oddechowo, w chwili przyjęcia doszło do zatrzymania akcji serca, która powróciła po reanimacji.

W wyniku przeprowadzonej diagnostyki stwierdzono wieloodłamowe złamania kości mózgo- i twarzoczaszki z obecnością krwotoków śródczaszkowych. Z uwagi na skrajnie ciężki stan ogólny, pacjentka została zdyskwalifikowana do leczenia neurochirurgicznego.

Wobec odstąpienia od leczenia operacyjnego chora pozostała w Oddziale Intensywnej Opieki Medycznej, gdzie podjęto leczenie farmakologiczne. Stosowano oddech zastępczy respiratorem, przetaczano płyny infuzyjne i krew, w sposób ciągły podawano dożylnie aminy katecholowe.

W szczególności w leczeniu zastosowano 6% HES 500, 0,9% NaCl, płyn wieloelektrolitowy, MgSO₄, Dopaminę, Levonor oraz płyn Ringera. Przyżyciowe stężenie glukozy we krwi wynosiło 95 mg/dl.

Mimo zastosowanego leczenia, stan dziecka systematycznie się pogarszał, narastała niewydolność krążenia. Po 12 godzinach pobytu w szpitalu i leczeniu nastąpiło nagłe zatrzymanie krążenia o typie asystolii i zgon.

Badaniem toksykologicznym krwi pobranej z żyły udowej i moczu denatki, przeprowadzonym metodą enzymatyczną ADH-TDx i chromatografii gazowej [10, 11], stwierdzono obecność 0,9‰ alkoholu etylowego we krwi przy jego całkowitym braku w moczu.

Poszukując przyczyny zaistnienia powyższego stanu, wstępnie przyjęto hipotezę, że obecność alkoholu etylowego we krwi denatki została spowodowana przemianami metabolicznymi jednego z zastosowanych w leczeniu środków farmakologicznych – HES. Z uwagi na budowę chemiczną tego związku, wydaje się prawdopodobne, iż w opisywanym przypadku mogło dojść do endogennej fermentacji alkoholowej.

3. Badania eksperymentalne

W celu weryfikacji hipotezy wstępnej, przeprowadzono *in vitro* następujące doświadczenie. Materiał do badań stanowiły trzy próby krwi pobrane od różnych osób: próba A zawierała krew sekcyjną dziecka zmarłego śmiercią gwałtowną, B – krew sekcyjną mężczyzny zmarłego śmiercią gwałtowną, C – krew ochotnika, zdrowego mężczyzny, pobraną w warunkach sterylnych. Każdą próbkę krwi, natychmiast po pobraniu, poddano badaniu na obecność alkoholu etylowego metodą ADH-TDx. Uzyskano wyniki: A – 0,0‰, B – 0,67‰ i C – 0,0‰.

Następnie każdą z 3 początkowych próbek krwi (A, B, C) podzielono na 6 części, otrzymując próbki A1–6, B1–6, C1–6, które przechowywano przez 6 dni w różnych warunkach temperaturowych, bez lub z dodatkim niżej wymienionych związków. Próbki A, B i C:

1. pozostawiono w temperaturze pokojowej (około +20°C);
2. pozostawiono w lodówce (+4°C);
3. natychmiast po podzieleniu i dodaniu HES pozostawiono w temperaturze pokojowej;
4. natychmiast po podzieleniu i dodaniu HES pozostawiono w lodówce;
5. natychmiast po podzieleniu i dodaniu HES pozostawiono w temperaturze pokojowej, a po 24 godzinach dodano ponadto fluorek sodu (NaF) i dalej przechowywano w tej temperaturze;
6. natychmiast po podzieleniu i dodaniu HES pozostawiono w lodówce, a po upływie 24 godzin dodano NaF i ponownie wstawiono do lodówki.

4. Wyniki

Dodanie do pobranych próbek krwi HES, a następnie po upływie 24 godzin NaF i przechowywanie próbek przez 6 dni, symulowało warunki, w jakich znajdowała się krew w przypadku zmarłego dziecka będącego przedmiotem ekspertyzy. Po 6 dniach przechowywania tych próbek krwi oznaczono w każdej z nich stężenie alkoholu etylowego (Tabela I i II) metodą ADH-TDx.

Ponadto po upływie 5 miesięcy wykonano ponownie oznaczenie zawartości alkoholu we krwi sekcyjnej dziecka stanowiącego przedmiot ekspertyzy. Wyznaczone stężenie alkoholu etylowego wynosiło wówczas 1,3‰.

Uzyskane wyniki wskazują, że stężenia alkoholu we wszystkich trzech próbach krwi przechowywanych w lodówce nie uległy zmianie i były porównywalne z wartościami początkowymi. Jest faktem ogólnie znanym, że przechowywanie materiału biologicznego w niskiej temperaturze opóźnia procesy rozkładowe. Zarówno rozwój bakterii, jak i aktywność ich enzymów, są zależne od temperatury, dlatego też chłodzenie hamuje wytwarzanie się alkoholu endogenego w materiale sekcyjnym. Dla

tych warunków przechowywania okres 6 dni był zatem za krótki, aby zaszły zmiany gnilno-rozkładowe w matrycy krwi sekcyjnej pobranej od dziecka, a tym bardziej we krwi pobranej w warunkach sterylnych od żywego ochotnika. Zawartość alkoholu we krwi pobranej od zmarłego mężczyzny była wynikiem konsumpcji alkoholu przed zgonem, co potwierdziła analiza moczu i ciała szklisatego oka.

Zachowanie aseptyki przy pobieraniu krwi od żywego mężczyzny zapobiegła procesom gnilno-rozkładowym nawet w temperaturze pokojowej. Nie doszło zatem do wytworzenia się alkoholu z dodanej HES. Bakterie i mikroorganizmy powstałe w czasie rozkładu materiału sekcyjnego mogą zarówno wytwarzać etanol, jak i zużyć go. Dlatego też początkowo wysokie stężenie alkoholu w materiale biologicznym może w czasie jego przechowywania obniżyć się na skutek aktywności bakterii, a początkowo niskie jego stężenie może ulec podwyższeniu. We krwi sekcyjnej pobranej od mężczyzny zmarłego śmiercią gwałtowną wartości stężeń alkoholu po dodaniu HES i HES z NaF oraz przechowywaniu przez 6 dni w temperaturze pokojowej były około 20% niższe od wartości początkowej. Spadek stężenia etanolu w tej próbce mógł być spowodowany jego zanikiem na skutek procesów gnilno-rozkładowych zachodzących we krwi. We krwi sekcyjnej dziecka początkowo wolnej od alkoholu stwierdzono jego obecność po dodaniu HES oraz HES i NaF jako inhibitora wzrostu bakterii. Nie ma zatem sprzeczności w stwierdzeniu, że temperatura pokojowa przyspieszyła rozwój bakterii i mikroorganizmów w tej krwi. Spowodowały one rozkład HES, w wyniku czego powstał etanol.

5. Wnioski

Analiza leczenia farmakologicznego pacjentki oraz wyniki przeprowadzonych badań doświadczalnych upoważniają do wyciągnięcia następujących wniosków:

1. Istnieje uzasadnione podejrzenie, że zastosowany podczas leczenia dziecka preparat farmakologiczny wpłynął na wynik oznaczenia zawartości alkoholu etylowego we krwi w postaci zwiększenia jego stężenia.
2. W omawianym przypadku jednym z zastosowanych preparatów była hydroksyetyloskrobia (HES) ulegająca w organizmie metabolizmowi z udziałem amylazy do cukrów prostych, które z kolei mogą powodować pośmiertne przemiany metaboliczne alkoholu etylowego.
3. HES dodana do próbek krwi pobranej podczas sekcji, wstępnie wolnej od alkoholu i przechowywanej w temperaturze pokojowej, ulegała przemianom, w wyniku

których powstał alkohol etylowy (doświadczenie *in vitro*).

4. NaF – substancja zapobiegająca rozwojowi drobnoustrojów – nie hamuje fermentacji alkoholowej w temperaturze pokojowej.
5. Dodanie do próbki krwi NaF i natychmiastowe umieszczenie jej w temperaturze panującej w lodówce jest warunkiem zahamowania fermentacji alkoholowej we krwi sekcyjnej.
6. We krwi pobranej w warunkach sterylnych od żywego ochotnika, mimo dodania HES i przechowywania jej w temperaturze pokojowej, nie doszło do wytworzenia się alkoholu etylowego.
7. W badanym przypadku proces fermentacji HES we krwi nie uległ zahamowaniu nawet po dodaniu środka konserwującego i przechowywaniu jej w temperaturze lodówki.