الفصل الرابع

اختبار الأداء البشري(HUMAN PERFORMANCE TESTING)

أ. د علا مصطفى

من ضمن اهتمامات علم السموم الشرعي الكشف عن وجود الايتانول و العقاقير الأخرى و المواد الكيميائية في الدم و التنفس و في العينات الأخرى و تقييم دورها في تغيير السلوك و الأداء لدى الإنسان. تعتبر القيادة تحت تأثير الكحول او العقاقير التطبيق الاشيع ل Human performance testing

القيادة تحت تأثير الكحول و العقاقير

(Driving under the influence of alcohol and drugs)

المقدمة

1- الجوانب الشرعية لتناول الكحول و العقاقير أثناء القيادة (Forensic aspects of alcohol, drugs and driving)

تعتبر القيادة تحت تأثير (Driving under the influence (DUI الكحول (DUIA) أو المخدرات (DUID) هي المسؤولة عن آلاف الحوادث كل عام . يتسبب تناول الكحول و العقاقير أثناء القيادة في كثير من الحوادث الخطيرة التي تودي بحياة الأشخاص. يبقى الكحول المسؤول الأول عن تدهور القيادة (impaired driving) الا انه قد تم مؤخرا تسليط الضوء على دور العقاقير في تراجع أداء السائق أثناء القيادة (DUID). تم تشريع العديد من القوانين لمراقبة القيادة تحت التأثير drink-driving مع القيام بإجراءات دورية لتتبع الحالات التي يتم فيها تدهور القيادة والكشف عنها و ملاحقتها ووضع من يتجاوز تلك القوانين تحت المسائلة القانونية.

تتم الاجراءات المتعلقة بال DUI للكشف عن الأشخاص الجانحين وفق التسلسل التالي (typical scenario):

- ترى شرطة الطرقات سيارة تُقاد بتهور أو يتم استدعاء الشرطة إلى مكان الحادث المروري
- يتم استجواب السائق و البحث عن العلامات التي تدل على عدم أهليته للقيادة (impairment) : الرائحة (رائحة الكحول او الحشيش المحترق), العيون المحتقنة, خلل في الإجابة على الأسئلة المطروحة (بطء او سرعة في الكلام,

عدم توافق الجواب مع السؤال المطروح), فرط في الحماس, حركات العين غير طبيعية, خلل في المهارات الحركية (صعوبة في إخراج المستندات و سقوطها على الأرض)

- اجراء اختبارات لتقييم عدم الأهلية (اختبار الرأرأة الأفقية للعين, اختبار المشي و الدوران)
- اجراء اختبارات الاستقصاء الطرقية (roadside screening) للكحول (breath-alcohol) و/أو العقاقير .
- في حال إيجابية النتائج يقاد السائق إلى مركز الشرطة حيث يتم إعادة اجراء اختبارات الاستقصاء و يتم سحب عينات دم و إرسالها إلى المخابر الشرعية للتحليل
- تبعاً لنتائج التحليل و لظروف الحالة يتم اجراء التدبير المناسب

يلعب علماء السموم الشرعيون دورًا مهمًا في العديد من جوانب DUI ، خاصة في دراسة العلاقة بين تأثير الكحول او العقار (pharmacological effect) و تدهور القيادة (impairment).. لديهم دور أساسي في تحليل العينات من السائقين المشتبه بتهورهم في القيادة، يمكن تلخيص مهمة السمومي الشرعي في ثلاث نقاط:

- حفظ وتحليل العينات المأخوذة من السائقين المشتبه بأنهم كانوا متهورين أثناء القيادة
- تفسير النتائج
- تقديم كافة المعلومات المطلوبة الى المحكمة و التي على ضوئها يتم اتخاذ الحكم.

نظرا لما قد يترتب عن نتائج التحليل السمي الشرعي من عواقب قضائية (التوقيف, الحجز, المحاكمة, مصاريف قضائية, غرامات, سحب الرخصة, السجن), يجب أن تتمتع المخابر بالمعايير التحليلية الملائمة و ان يتمتع الأشخاص الذين يقومون بتفسير النتائج بكفاءة مهنية عالية.

2- الحركية السمية

الحركية السمية للأيتانول هامة جداً و قد تكون محور من محاور الأسئلة التي يطرحها القضاء, مما يتوجب على الخبراء دراسة العوامل المؤثرة على الحركية السمية للإيتانول المتعلقة بالشخص المشتبه به, إضافة لتحديد كمية الكحول المستهلكة و تفسير النتائج المتعلقة بال alcoholism (Back calculation).

حيث تصادف حالات لا يمكن الكشف عن الكحولية فيها بالرغم من تناول كميات كبيرة من الكحول وذلك قد يعود إلى ارتفاع المعدل الاستقلابي لديها و بالتالي اختفاء الكحول بسرعة من العضوية.

بعد تناول الكحول فإنه يخضع لعملية استقلاب في الجهاز الهضمي قبل امتصاصه إلى الدوران و هو ذات أهمية كبيرة لتأثير على التوافر الحيوي للكحول و بالتالي لنتائج معايرته. يعود الاستقلاب المعدي المعوي إلى وجود أنزيمات الكحول الدي هيدروجيناز (ADH) في مخاطية المعدة و الأمعاء و يؤدي إلى تشكل موضعي للأست ألدهيد (سام) الذي قد يكون

السبب في حدوث أذيات في الأنسجة (سمية موضعية) مع زيادة في خطر حدوث السرطان. يمكن أن يتم هذا الاستقلاب بواسطة جراثيم و خمائر الجهاز الهضمي (لها فعالية ال ADH).

المعدل الاستقلابي للكحول في الجهاز الهضمي لا يتجاوز ال 10% من كمية الكحول المتناولة حيث يتم امتصاص الباقي. و ينخفض هذا الاستقلاب في حال حدوث أذية في المخاطية (التهابات هضمية مزمنة) فبالتالي امتصاص أكبر. الاستهلاك المزمن للكحول يقود إلى تراجع في دور ال ADH في المعدة و الأمعاء مما يؤدي لامتصاصية أكبر أيضاً.

يتم الامتصاص بشكل رئيسي في القسم الأول من الأمعاء الدقيقة, حيث ينتقل الكحول الى الدم و ينتشر بسرعة في جميع العضوية (ينتشر في الأوساط المائية) و يتركز في الأماكن الأكثر استسقاءاً والتي تتركز فيها الأوعية الدموية وخاصة الكبد و خلايا المنطقة القشرية الدماغية (مركز التحكم بالسلوك و العقل) و من هنا يأتي تأثير الكحول على سلوك السائق. لا يتواجد الكحول في الأنسجة الشحمية و العظام.

3- العوامل المؤثرة على الكحولية في الدم:

1- عوامل تؤثر على طور الامتصاص (الإفراغ المعدي للكحول)

- حالة المعدة: في حال كانت المعدة فارغة يزداد الافراغ المعدي للكحول و بالتالي يكون امتصاصه سريعاً في مستوى الأمعاء الدقيقة حيث تقدر المدة اللازمة لامتصاص كامل جرعة الايتانول 30-60 دقيقة. أما في حال وجود الطعام فإن إقامة الكحول تطول في المعدة (الطعام يؤخر الإفراغ) و بالتالي يصبح عرضة أكبر للاستقلاب
- تتأثر المدة اللازمة لامتصاص الكحول أيضاً بنوع الطعام: الاطعمة الدسمة تؤخر امتصاصه.
- في حال كانت الدرجة الكحولية للمشروب الكحولي مرتفعة (أعلى من 20%) فإنها سوف تسبب تشنج المصرة البوابية (تأخير الافراغ و بالتالي الامتصاص). من العوامل الاخرى التي تؤخر الافراغ (الامتصاص): بعض الأدوية, التوتر, التدخين,الجهد, ارتفاع الادرينالين.

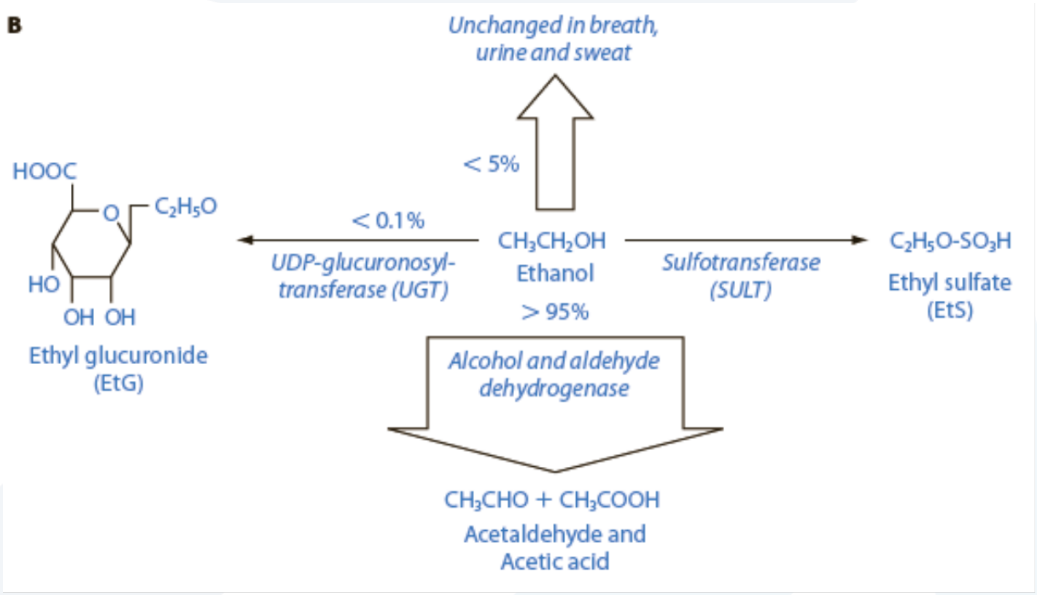
2- *عوامل دوائية*

يوجد العديد من الأدوية التي يمكن أن يكون لها أثر في زيادة التركيز الأعظمي للكحوليةأو على سرعة اختفاؤه من الجسم.

بعض الأدوية تحتوي على الكحول في تركيبها مثل بعض المقويات و الشرابات المضادات للسعال و الاكسيرات (تتراوح نسبة الكحول 5-40%) لذلك على الطبيب أو الصيدلاني اخبار المريض بذلك.

يمكن أن يؤثر الكحول على حركية الدواء من خلال تأثيره على الافراغ المعدي أو تحريضه للاستقلاب الكبدي (تحريض أنزيمات السيتوكروم p450). بالمقابل يمكن أن تغير الأدوية من الحركية السمية للإيتانول بتغير الإفراغ المعدي أو تثبيط ال ADH المعدي. يكثر ذكر تداخل تأثيرات الكحول المنومة و المخدرة مع أدوية أخرى و خاصة البنزوديازبينات و الأدوية النفسية الأخرى. كما أن التشارك مع مضادات الالتهاب اللاستيروئيدية يزيد من خطر حدوث نزوفات معدية معوية.

4- مسارات تحول و طرح الكحول من الجسم:



85% من كمية الكحول الممتصة يتم استقلابها أنزيميا في الكبد و تحويلها بشكل رئيسي إلى CO2 و ماء و حموض دسمة (جزء ضئيل). أما الباقي فيتم طرحه بدون استقلاب في هواء الزفير (إن إفراز الكحول في التنفس يجعل اختبار الكحول في التنفس ممكنًا.) و العرق و البول بنسبة لا تتجاوز ال .5% من الإيتانول . كما يخضع الايتانول بنسب قليلة لتفاعلات اقتران لنزع سميته مشكلا ال ethylsulfat و. ethylglucoronide .

<u>ايثيل غلوكورونيد Ethyl glucuronide (ETG)وكبريتات الإيثيل ethyl sulfate (EtS)</u>

يتم استقلاب نسبة صغيرة من الإيثانول لإعطاء غلوكورونيد الإيثيل وكبريتات الإيثيل . تعتبر هذه المستقلبات مؤشرات حيوية مفيدة تم استخدامها للتحري <u>عن الاستهلاك الحديث للكحول</u> في حوادث القيادة تحت تأثير الكحول.

من المعروف أن الإيثانول يمكن إنتاجه في الجسم عن طريق التخمير بعد الموت. وبالتالي ، لا يمكن اعتبار اكتشاف الإيثانول من تحليل الدم أو عينات البول بعد الوفاة من سائق توفي في حادث سيارة دليلاً على استهلاك الكحول قبل الوفاة. تشير الدراسات إلى أن EtG لا يتم إنتاجه بعد الوفاة . وبالتالي، إذا تم العثور على هذا المستقلب في الدم أو البول بعد الوفاة فهذا يدل على استهلاك الكحول قبل الوفاة. مع الإشارة الى أن نافذة التحري عنه قصيرة في الدم و البول وتم إطراحه بكميات قليلة.

يتواجد الethylglucoronide, بالإضافة للدم و البول, في الشعر حيث يعتبر. هذا المستقلب واسم جديد لاستهلاك الكحول و من الممكن الكشف عنه <u>خلال فترة طويلة من الوقت</u> بعد طرح كامل للكحول من الجسم نظراً لاحتباسه في الخلايا الكيراتينية مما يجعل نافذة التحري عنه طويلة في الشعر مقارنة مع الأوساط الحيوية.

الأكسدة الأنزيمية:

يتم بشكل أساسي في الكبد و بشكل أقل في المعدة و الأمعاء و الكلية:

1- أكسدة الايتانول الى است الدهيد (مستقلب شديد السمية) في السيتوبلاسما:

في حال كان الاستهلاك متوسط للكحول (moderate alcohol consumption) تتم الأكسدة بواسطة ال ADH (alcohol dehydrogenase) مع وجود مساعد للانزيمNAD (يوجد العديد من الisoformes لهذا الأنزيم مما يفسر في درجة استقلاب الكحول بين البشر).

في حال كان الاستهلاك كبير و متكرر (heavyalcohol consumption) يتم إشباع الطريق السابق بالكامل و تفعيل طريقين أنزيميين مساعدين: الاول (MEOS; microsomial ethanol oxidizing system) والثاني (catalase).

2- أكسدة الاستالدهيد إلى حمض الاستيك في الميتوكوندريا بواسطة انزيم اسيت الدهيددیزهیدروجیناز (ALDH)

3- تحول الاسيتات الى acetyl COA الذي يدخل في حلقة كريبس لتوليد الطاقة و ينتج عنها توليد ال CO2 و الماء.

إن التناول المفرط للكحول يؤدي لزيادة في كمية الاسيتات الناتجة و بالتالي الى ازدياد في ال acetyl COA الذي يستخدم كطليعة لتشكيل الحموض الدسمة و اصطناع الكوليسترول

ينتج عن استقلاب الكحول تشكل كمية كبيرة من ال NADH و نضوب في ال NAD في السيتوبلاسما و الميتوكوندريا مؤدياً إلى انخفاض في العمليات الاستقلابية الأخرى المتواجدة في الكبد و المعتمدة على NAD/NADH

5- ظاهرة التحمل للكحول:"tolerance to alcohol"

عندما يتعرض الجسم أو الدماغ بشكل منتظم إلى الكحول لوقت طويل من الوقت, تحدث بعض التغييرات لمساعدة الجسم على التأقلم على وجود الكحول. و يتم هذا التأقلم على صعيدين:

1- الكبد: إن الازدياد في معدل الاستقلاب الكحولي لدى ال heavy drinkers من خلال تفعيل عدد كبير من الأنزيمات (انظر فقرة استقلاب الكحول) يؤدي إلى اختفاء الكحول سريعاً من الدم و بالتالي يحتاج الكحوليين لشرب كمية أكبر من الكحول للحصول على نفس التأثير.

2- الدماغ: عندما يتعرض جهاز النقل العصبي في الدماغ لكميات كبيرة من الكحول, يتأقلم هذا الجهاز على وجود الكحول. حيث أنه يعمل على كبح وظيفة جهاز النقل العصبي من خلال تأثيره على مستقبلات ال GABA مسبباً النعاس و تناقص في الإدراك و التنبه. لدى التعرض المزمن للكحول فإن نظام ال GABA يتأقلم (ترتفع عتبة التنبه للمستقبلات) ممايؤدي إلى انخفاض في شدة التأثيرات (النوم, الاسترخاء) مما يدفع ال heavy drinkers لتناول كميات أكبر من الكحول.

لدى الاستهلاك المزمن للكحول (عدة سنوات) و بكميات كبيرة يحدث ما يسمى ب Reverse tolerance : حيث إن تناول الكحول بكميات كبيرة لفترة طويلة من الزمن يؤدي إلى تراكم الشحوم في الكبد و تأذي الأنسجة مما ينعكس على أداء الكبد و قدرته على استقلاب الكحول الذي تزداد معدلاته في الدم حتى في حال تناول كميات قليلة منه مؤديا لظهور أعراض تسمم حادة.

6- تأثيرات الكحول على القدرة على القيادة و دوره في وقوع الحوادث :

. القيادة هي عملية معقدة تتطلب التنسيق المتزامن للمهام الحسية والحركية ، والتنسيق بين اليد والعين ، والتحكم في العضلات .علاوة على ذلك ، بما أن القيادة هي مهمة تتطلب الانتباه على عدة اتجاهات و أصعدة، فإن السائق لا يتمتع بترف التركيز حصريًا على أي من هذه المكونات ، حيث يجب أن يكون مستعد للقيام بكل ما هو مناسب ، ومراقبة عدد من المدخلات الحسية ، وإعطاء الأولوية تبعا للظروف المتغيرة .يمكن أن يؤثر تعاطي المخدرات أو الكحول على تنفيذ كل متغير على حدى ، وبالتالي فإن آثارها تكون أكثر وضوحًا في المهام الأكثر تعقيدًا و التي تحتوي على عدة متغيرات. يسبب الكحول تباطؤ في التوصيل العصبي ،مما يؤدي إلى رد فعل أبطأ ، وصعوبة في معالجة المعلومات ودمجها ، وبالتالي تراجع الانتباه على عدة عوامل في آن واحد. يختلف تأثر السائقين بالتراكيز المختلفة للكحول في الدم (BACs).تبعا لمجموعة متنوعة من العوامل ، والتي تشمل التعرض المسبق للكحول ، ودرجة تحمل الكحول الحاد والمزمن.

0.1 -0.2 g/l: الاثر الأول للكحول هو شرود الذهن (ضعف الانتباه, عدم القدرة على التركيز). إن هذه المعدلات بشكل عام لاتؤثر بالضرورة على القيادة ولكن يشعر السائق بتراجع في مهاراته مع بقائه مسيطراً على القيادة حيث لا يشعر المحيطين به انه تحت تأثير الكحول. اعتقاد الشخص أن قدرته على القيادة لا تتأثر في حال كانت كمية الكحول المتناولة أقل من المسموح بها هو اعتقاد خاطئ فتأثير الكحول يبدأ من الكأس الأول.

اعتباراً من كحولية مقدرة ب 0.3 g/l تبدأ آثار أشد خطورة على: الرؤية (حركة العين و الرموش , حول), reaction time (يطول الوقت الذي يؤخذ للاستجابة للخطر أو لمؤثرات بصرية أو سمعية), psychomotor (نخفاض في التوافق الحسي الحركي و خاصة فيما يتعلق بالدقة و تقدير السرعة و المسافات).

عند التراكيز العالية من الكحولية 0.8 g/l و مافوق : إن الاضطرابات النفسية الناجمة عن تناول الكحول هي الأكثر خطورة (ضعف في المحاكمة المنطقية, التحرر من القيود و فقدان التحكم بالذات, عدوانية, غضب, حب المخاطرة) و هنا تكون القيادة متهورة و خطيرة جداً. إضافة إلى خلل شديد في الرؤية (عدم القدرة على تمي الألوان و التكيف مع انعكاسات الضوء و خاصة في الليل, انخفاض في حدة البصر الى النصف, ثبات البصرو انخفاض في سرعة الاستجابة للمؤثرات البصرية).

بشكل عام يتضاعف الخطر عند التركيز 0.5 g/l (x 2) و عند التركيز 0.7 g/l يصبح 5 أضعاف (x5) و لدى التراكيز العالية 0.8 g/l و مافوق يصبح 10أضعاف (x10).

7- الحدود المسموح بها للايتانول في الدم و في هواء الزفير لدى السائقين

من أجل وضع حدود تشريعية ل DUI ، يجب أن تتوفر المعلومات الكافية حول التأثيرات الناجمة عن تناول الكحول على الخلل في القيادة تم إجراء العديد من الدراسات لقياس استهلاك الكحول ومستوياته في الجسم وعلاقته بالتغييرات التي تطرأ على الأداء النفسي الحركي. و عليه تم تحديد الحدود المسموح بها للكحولية في الدم أثناء القيادة.

اعتمدت معظم السلطات القضائية حدودًا لقيم الكحولية في الدم ، والتي تعتبر مقبولة / غير مقبولة للفرد في نظامهم أثناء القيادة .تختلف تلك الحدود التي تم تشريعها تبعا للبلد الموجودة فيه. تبنت النرويج والسويد حدود 0.2 غ من الكحول / لتر من الدم. في بقية أوروبا وأستراليا وأمريكا الشمالية ، تختلف حدود BAC التشريعية عمومًا بين 0.5 و 1.0 غ / لتر. تقدر الكحولية في الدم ب 0.5 غ / لتر في أستراليا ومعظم أوروبا (بلجيكا ، الدنمارك ، فنلندا ، فرنسا ، ألمانيا ، اليونان ، إيطاليا ، هولندا) ، و 0.8 غ / لتر في المملكة المتحدة ومعظم أمريكا الشمالية 1.0 غ / لتر في بعض الولايات في الولايات المتحدة الأمريكية أما الحد الأقصى في اليابان هو 0.3 غ / لتر .في الدم نسبة الكحولية التي يسمح بها تتراوح بين 0.2-0.8 g/l و لكن بعد 0.8 g/l تكون القيادة ممنوعة. أما في هواء الزفير تتراوح بين 0.10 -0.40 m g/l . العلاقة بين تراكيز الكحول في الدم و بين تراكيزها في هواء الزفير تقدر وسطيا ب 1/2000 فعلى سبيل المثال في حال كان تركيز الايتانول في هواء الزفير 0.25 mg/l فهذا يوافق كحولية في الدم 0.5 g/l = 500 mg/l = 0.25x 2000

Country	BAC	Alcohol in exhaled air	Conversion factor
ALLEMAGNE	0,80 g/kg* = 0,84 g/L	uniquement dépistage	2100
AUTRICHE	0,80 g/L	0,40 mg/L	2000
BELGIQUE	0,50 g/L	0,25 mg/L	2000
FINLANDE	0,50 mg/g* = 0,53 g/L	0,25 mg/L	2100
FRANCE	0,50 g/L	0,25 mg/L	2000
HOLLANDE	0,50 g/L	0,22 mg/L	2300
NORVÈGE	0,50 mg/g* = 0,53 g/L	0,25 mg/L	2100
ROYAUME UNI	0,80 g/L	0,35 mg/L	2300
SUÈDE	0,20 mg/g* = 0,21 g/L	0,10 mg/L	2100
* 1 ml de sang total pèse 1,055 g			

التحليل (analysis):

العينات الأكثر شيوعا لتحديد نسبة الكحول في اختبارات القيادة تحت تأثير الكحول هي الدم و / أو هواء الزفير. أقل شيوعًا ، يتم إجراء الاختبار على البول أو اللعاب ، ولكن هذه العينات لا يتم التعرف عليها عند المقاضاة على القيادة تحت تأثير الكحول.

1- الدم:

A- طور قبل التحليل preanalytical phase:

ويتم في هذا الطور جمع عينة الدم و حفظها. توجد العديد من المشاكل و الأخطاء التي يمكن أن تحدث في هذا الطور الأمر الذي جعل العديد من مراكز الشرطة تفضل اختبارات التنفس على اختبارات الدم.

الاخطاء التي يمكن حدوثها في هذا الطور:

1- عادة يتم استدعاء الطاقم الطبي و قدومه الى مركز الشرطة لسحب عينات الدم. قد يستغرق الأمر بعض الوقت قبل وصولهم و خلال هذه الفترة قد يتم استقلاب واطراح كامل كمية الكحول من جسم المشتبه به
2- عدم استخدام الكحول الاتيلي للتطهير في موقع سحب العينة: إن تطبيق مطهر موضعي من الكحول الاتيلي في موقع أخذ العينة لا يؤثر على نتيجة التحليل.
3- في حال جمع العينات بأوعية غير محكمة الإغلاق فقد يتعرض الكحول للتطاير الأمر الذي يؤدي إلى نتائج تحليل غير صحيحة للايتانول.
4- تشكيل خثرات دم في الأنبوب الحاوي على العينة:

ينتج عن السحب السيء للعينة أو عدم رج الأنبوب بشكل كافي فصل بين السائل المصلي و الخثرة الدموية. لا يمكن معايرة الايتانول في عينة دم متخثرة (لا تعتبر عينة مثالية لاجراء التحري عن الايتانول).

يتم تحليل الدم الكامل و ليس السيروم لتحديد تراكيز الكحول. و السبب في ذلك يعود إلى أن تركيز الكحول في البلاسما أو السيروم اعلى من الدم الكلي (النسبة 1/1,14): ينحل الكحول بشكل كبير في الماء و ينتشر في أعضاء الجسم و السوائل بمعدل يتناسب مع محتواها من الماء. فبالتالي يتركز في البلاسما أو السيروم (نسبة احتوائه من الماء 98%) بنسبة أعلى من الدم الكامل (يحتوي على الماء بنسبة 86%) ممايؤدي إلى الحصول على قيم غير حقيقية للكحولية في الدم.

5- -قد تتعرض عينات الدم للتلوث الميكروبي و هذا قد يتسبب في اختفاء الكحول من العينة او ازدياد تراكيزه مما يؤثر على نتائج التحليل.

تشكل أو تخرب الايتانول نتيجة تفاعلات ميكروبيولوجية (microbiological reaction)

في حال تلوث عينة الدم بالجراثيم أثناء عملية سحب العينة أو نقلها أو سوء حفظها فإن ذلك يؤثر على نتائج التحليل. وجود ركائز تخمر ,مثل مركبات سكرية داخلية المنشأ أو خارجية (المانيتول) أومركبات بروتيدية و الحموض الأمينية, يسمح لعدد كبير من الأحياء الدقيقة (خمائر, جراثيم) تبعاً للشروط الفيزيائية الكيميائية الموجودة في الوسط بتركيب الايتانول (من خلال تخمر السكاكر) أو تخريبه.(أكسدة الايتانول الى است الدهيد و من ثم اسيتات) الأمر الذي يتسبب في نتائج تحليل خاطئة و غير صحيحة و لا تعطي قيمة حقيقية للكحولية في الدم..

وتظهر هذه الظاهرة (تركيب و تخريب الكحول) بشكل خاص في الجثث حيث يعتبر الكحول من السموم التي تزداد او تنقص تراكيزها بعد الوفاة و هو أمر لا يتعلق بتلوث العينة بعد سحبها في حالات ماقبل الوفاة. حيث يتم تركيب الايتانول في الجثة قبل أخذ العينة: خلال الساعات الأولى من الوفاة تنتقل جراثيم الجهاز الهضمي الى الدم و في خلال أقل من 6 ساعات تصبح في الجهاز الدوراني. تصبح الجثة مقر لعمليات التخمر في الدم و السائل الهضمي و البول نتيجة التكاثر الجرثومي و الانقطاع في الأغشية الخلوية مما يجعل من عينة الخلط الزجاجي من العين الوسيلة الفضلى لتحديد الكحولية كونه بعيد عن التلوث الجرثومي. إن العينات المأخوذة من الجثة تكون عرضة للتلوث بعضيات دقيقة ذات قدرة على إحداث التخمر أو الأكسدة للايتانول أو كلاهما معاً (ظاهرة التركيب و التخرب يمكن أن يحدثان في آن واحد أو بصورة متتابعة). في حال أخذ العينات من مواقع عدة من الجثة, يمكن ملاحظة ظاهرة التخريب و التركيب *In vitro* في موقع أو موقعين أو جميع المواقع التي يتم فيها سحب العينة.

يمكن ملاحظة تركيب للايتانول الداخلي المنشأ لدى الاشخاص الأحياء و لكن هنا يصبح الموضوع غير متعلق بأخطاء التحليل و انما يعود الى ظاهرة (endogenous alcoholisation) والمرتبطة بمرض هضمي.

العوامل المؤثرة على ظاهرة تركيب و تخريب الايتانول أثناء حفظ العينة:

- فلور الصوديوم: إن فلور الصوديوم ي يعمل على تثبيط العمليات الاستقلابية البكتيرية (تخمر أو أكسدة) *in vitro*. في حال استخدام فلور الصوديوم بتركيز 1% p/v فإن فعاليته المثبطة لا تكون كبيرة و تزداد مع ازدياد تراكيزه. المشكلة أن محتوى الأنابيب المخصصة لسحب الدم لإجراء التحاليل الشرعية من فلور الصوديوم لا يتجاوز 1% p/v
- درجة الحرارة: البرودة تثبط بشكل وسطي أو كبير أما التثبيط فيكون كلياً عند التجميد

.يتخرب الايتانول in vitro تحت تأثير الاحياء الدقيقة بنسبة أكبر من 50% خلال 4 أيام و 100% خلال اسبوع (وجود الفلور بتركيز 0,25% لا يثبط عملية التخرب): التخرب يصبح ابطأ لدى الحفظ بدرجة +4°(يتخرب 13% من الايتانول مع NaF 1% في حين تزداد نسبة التخرب مع NaF 0.25%17%).

days	Ethanolism g/l			
	NaF 0,25%p/v 20°C	NaF 0,25%p/v 4°C	NaF 1%p/v 20°C	Naf 1%p/v 4°C
0	0,73	0,73	0,73	0,73
2	0,43	0,56	0,54	0,66
4	0,29	0,50	0,31	0,60
7	0,00	0,47	0,10	0,54

لسوء الحظ إن العينات بعد سحبها لا يتم حفظها فوراً في البرودة (إرسال عن طريق ابريد, فترة تحفظ عليها من قبل السلطات) الا أن البيولوجيين يقومون بتجاهل هذا الأمر و لا يبحثون فيما اذا كان شرط حفظ العينة بالبرودة كان قد تم احترامه.

- وجود ركائز تخمرية سكرية او بروتيدية: داخلية مثل الغلوكوز و اللاكتات و الغليكوجين او خارجية كاستعمال سيروم سكر أو مانيتول على سبيل المثال.

6- ظاهرة الانتشار ما بعد الوفاة

يمكن أن يصل الكحول الى مستويات عالية في القلب و الاوعية الشريانية الكبيرة (أعلى ب 400%) مقارنة مع الدم المحيطي. عينة الدم المثلى تؤخذ من الوريد الفخذي

7- الأكسدة البطيئة للإيتانول *in vitro*

لكي تتم هذه الأكسدة فهي بحاجة إلى نظام أنزيمي غير متواجد إلا في الكريات الحمراء مرتبط بأوكسي هيموغلوبين و ميتموغلوبين. لا تتثبط هذه الأكسدة بوجود الفلور و تعتمد على درجة الحرارة (يتم الانخفاض بمقدار 0,20 g/l خلال عدة أسابيع لدى الحفظ بدرجة الحرارة العادية +20°).

B- طور التحليل analytical phase

يتم التحري عن الكحولية في الدم في حالتين:

1. في حال الجريمة أو الجنحة (Crime or offense: تحري طبي شرعي يتم في المخابر الشرعية)
2. في حال سلامة الطرقات :مراقبة لمعدل الكحولية من قبل سائقي السيارات (Road :safety: تحري غير شرعي يتم في مخابر المشافي)

بكلا الحالتين يتم استخدام إحدى الطريقتين (cordebard, GC) :في هذين الحالتين يطلب القضاء التحري عن الكحولية لاتخاذ قرار بسحب رخصة القيادة أو بعقوبات أخرى. في المجال الشرعي تم اعتماد طريقتين فقط لمعايرة الكحول الاتيلي في الدم:

-Cordebard: يتم ترسيب البروتينات و عزل الايتانول بالتقطير و من ثم تتم معايرة الايتانول في القطارة (طريقة بسيطة و غير نوعية). -الكروماتوغرافيا الغازية GC

اليوم لاتستخدم الا الطريقة الكروماتوغرافية في التحاليل الشرعية اما طريقة Cordebard فهي عملياً غير متبعة.

لا يمكن استخدام الطريقة الأنزيمية (معايرة ال NADH) الا بهدف التشخيص السريري و هي غير معترف عليها شرعياً.

تُطبق طرق Headspace GC عادةً لأن الإيثانول متطاير ، حيث يمكن بهذه الطريقة الحصول الايتانول دون الحاجة الى القيام بعملية معالجة لعينة الدم لاستخلاص الايتاول.

التحري عن الكحولية بطريقة ال headspace GC/MS في الدم

يعد تحليل ال BAC (blood alcohol concentration) الاثبات الرئيسي لإدانة المشتبه به لدى التحقيقات في حالات القيادة تحت التأثير (DUI) للكشف عن الايتانول و معايرته في الدم, تعتبر الطريقة الكروماتوغرافية الغازية الموصولة الى جهاز مطيافية الكتلة هي التقنية الرسمية المعتمدة في مخابر التحليل الشرعي.(HS/GC/MS: Headspace gaz chromatography coupled with mass spectrometry) لما تتمتع فيه من الحساسية و الدقة و النوعية إضافة إلى سهولة و سرعة التحليل. لايمكن استخدام هذه الطريقة بشكل عام الا اذا كانت المركبات المراد تحليلها طيارة و مقاومة للحرارة

✓ **HS (headspace) Sampling**

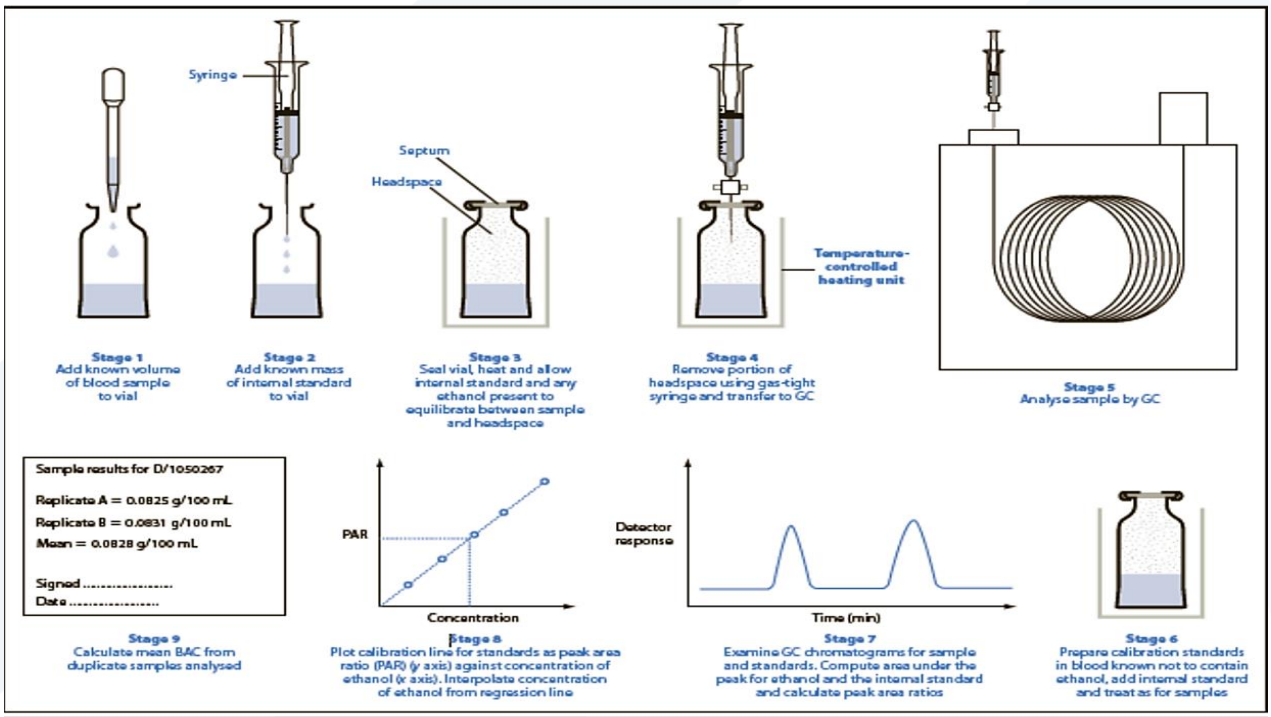
يتم تحضير العينة بطريقة ال headspace في حال كانت المركبات الطيارة المراد تحليلها متواجدة في وسط حاوي على مواد لايرغب بإدخالها في جهاز ال GC كالدم. يتم وضع العينة في زجاجة حافظة للحرارة headspace vial و اغلاقها بسدادة, تحت تأثير الحرارة و الضغط يتم انتقال المركبات الطيارة لتنتشر في الفضاء المحتجز بين العينة و سدادة الزجاجة (headspace) وتبعاً لقانون هنري تكون تراكيز المركبات المتواجدة في البخار بتراكيز متناسبة مع تراكيزها الموجودة في السائل حيث يتم سحب جزء من ال headspace بواسطة سيرنغ و حقنه بسرعة في جهاز ال chromatogram.

aliquots for analysis: لتحضير عينة التحليل يلزم:

- معيار داخلي internal standard (IS) وهو n- propanol. (نستدل من خلاله أن الكمية المحقونة هي ذاتها في جميع العينات)

- control standard (CS) يتم تحضيره من خلال مزج الميتانول و الايتانول و الاسيتون و الايزوبروبانول (نظراً لإمكانية تواجد هذه المركبات الطيارة في الأوساط الحيوية).
- محاليل عيارية من الايتانول معلومة التراكيز.

يوضع في ال headspace vial: 1 مل من IS +100ميكروليتر العينة التي سيتم حقنها (CS , محاليل الايتانول العيارية, العينة المجهولة التركيز من الايتانول). ثم يغلق الفيال بسرعة و يطبق عليه حرارة و ضغط كي تنتقل المركبات الطيارة الى headspace.



2- التنفس (هواء الزفير) Analysis of breath alcohol

أصبح التنفس العينة البيولوجية المفضلة لقياس تركيز الكحول و يعتبر تحليل هواء الزفير تحليل الطب الشرعي الأكثر شيوعًا المستخدم في تطبيق القيادة تحت تأثير الكحول. (breath- alcohol analysis). نتج تفضيل قياس الكحول في التنفس عن عدة اعتبارات ، والتي تشمل : -لا تحتاج الى كمية كبيرة من هواء الزفير للتحليل . –سهولة التحليل وسرعة الحصول على النتائج . – ذات تكلفة قليلة. - عادةً ما يتم إجراء تحليل تنفس الكحول في مركز شرطة أو بيئة أخرى غير مختبرية من قبل مستخدم مدرب (ولكن ليس من الصيدلي أو عالم الطب الشرعي).

الأجهزة المستخدمة في قياس الكحول في هواء الزفير

Ethylotest. A

1- Ethylotest فئة A (chimic)

و هو أنبوب تفاعلي (reactif tube) يتم إدخال طرف منه في جيب مرن سعة 1 ليتر تقريباً.يتم النفخ فيه.

يحتوي هذا الأنبوب على حبيبات كريستالية مكونة من بيكرومات البوتاسيوم و حمض السلفوريك. في حال كانت الحبيبات الكريستالية صفراء فهذا دليل على عدم استهلاك الكحول (تفاعل سلبي). ظهور اللون الأخضر دليل على تفاعل الكحول مع هذه الحبيبات . إن وصول اللون الأخضر للخط المركزي (أو تجاوزه) يدل على أن تراكيز الكحول في الدم تجاوزت ال 0,5 g/l و في هذه الحالة تكون القيادة ممنوعة.

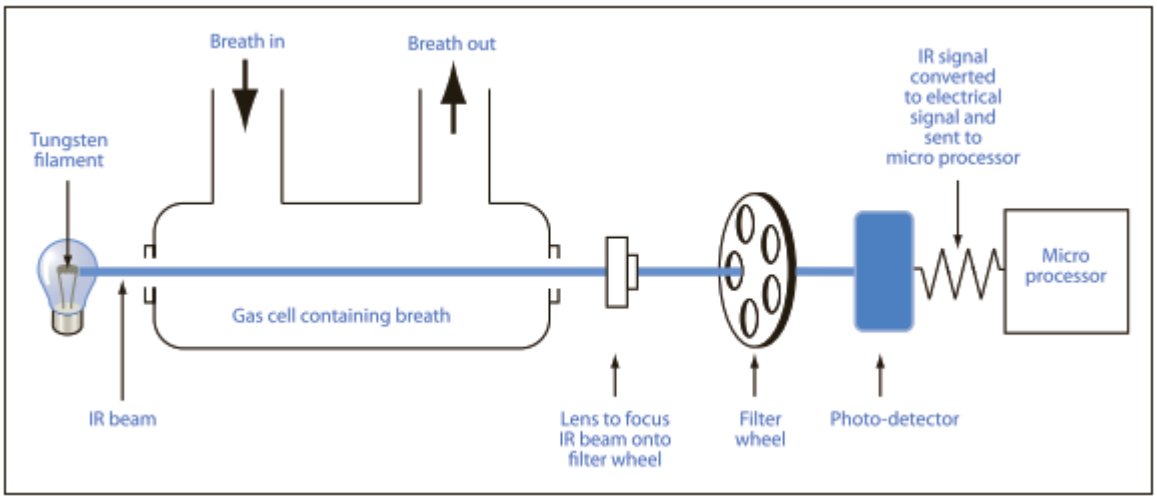
2- Ethylotest فئة B (Electronic)

و هو جهاز ديجيتال الكتروني يعمل على إعطاء تراكيز الكحول الموجودة في الدم مباشرة. مبدؤه: الكحول يتم أكسدته إلى حمض الاستيك مولد تيار كهربائي (الكترونين لكل جزيئة ايتانول) يتناسب شدته مع تراكيز الايتانول. و من ثم يتخرب حمض الاستيك الي اوكسجين و co2 و ماء. يستمر القياس 20 ثانية.

Ethylometre. B

قياس معدل تراكيز الكحول في الدم من خلال قياس امتصاص الأشعة الفوق الحمراء من قبل جزيئة الكحول الاتيلي. أولى التقنيات المستخدمة في اختبار الكحول في هواء الزفير تعتمد على تفاعلات كيميائية لونية إلا أن هذه الطريقة تفتقد للحساسية و لا تستطيع تحديد تراكيز الكحول في هواء الزفير بدقة. تم استبدال هذه التقنية الى حد كبير بأجهزة الامتصاص لطاقة الاشعة تحت الحمراء ((infrared (IR) و التي تسمح بالتحديد الكمي. من المشاكل المواجهة لدى استعمال هذه التقنية أنه توجد مواد عضوية طيارة يمكن أن تتواجد في هواء الزفير و تمتص عبر ال IR مما يتسبب في قراءات خاطئة. من المركبات الطيارة التي يمكن أن تتواجد في هواء التنفس هي تلك تنتج عن الكيتوز و المذيبات الطيارة مثل التولوين و المحلات الموجودة في الدهان و غيرها نتيجة التعرض العرضي لتلك المركبات في أماكن العمل و أثناء القيام بأعمال الصيانة في المنازل.

تم إيجاد تقنية تحليلية تجمع بين منهجين مختلفين للقياس هما ال IR وطريقة ال fuel-cell مما يزيد من فرصة اكتشاف وجود المواد المتطايرة غير الكحول في هواء الزفير وتقليل احتمالية حدوث نتيجة خاطئة. يحتوي الجهاز على سلسلة من المرشحات وظيفتها توضيح ما إذا كانت هناك مواد أخرى قد تتداخل مع تحديد كمية تركيز BrAc.



تفسير النتائج results interpretation

عادة ما يتم المحاسبة على جنحة القيادة تحت تأثير الكحول لدى تجاوز تراكيز الكحول الحدود المسموح بها أثناء وقت القيادة. من المحتمل أن يكون قد انقضى بعض الوقت بين الوقت الذي يتم فيه إيقاف الشخص المشتبه في DUI والوقت الذي يتم فيه إجراء اختبار الكحول التنفسي الإثباتي أو أخذ عينات للمختبر لتحديد الكحول في الدم. خلال هذا الوقت ، سيتغير مستوى الكحول في العضوية بسبب عمليات التوزيع واالاستقلاب والإطراح .وبالتالي فإن تركيز الكحول في وقت الاختبار أو أخذ العينات لن يكون كما كان في وقت استجواب السائق في البداية.

لذلك هناك حاجة للقيام بتقدير تراجعي retrograde estimate لتركيز الكحول في الدم أو في هواء الزفير في الوقت الذي تمت فيه مخالفة DUI .يتم تطبيق العديد من المصطلحات على هذا التقدير ، بما في ذلك الاستقراء الرجعي ret- rograde extrapolation أو الحساب العكسي back-calculation أو الاستقراء الخلفي .back-extrapolation. تشير جميع تلك المصطلحات إلى عملية تطبيق المبادئ الأساسية لعلم الحركة الدوائية للوصول إلى تقدير لتراكيز الكحول في الدم أو هواء الزفير في وقت سابق بناءً على التركيز المقاس في وقت لاحق .و نورد مثال لتوضيح تطبيقه .

مثال عن طريقة الحساب الرجعي back-calculation: شخص تم توقيفه لارتكابه مخالفة DUI في الساعة 8 مساءا. لا يتمكن مركز الشرطة من الحصول على عينة التنفس حتى الساعة 10:30 مساءا لبعض الأسباب (بعد المسافة, تأخر الطاقم الطبي لأخذ العينة,....) . تم أخذ عينتان تنفس من الشخص و كانت النتائج 0.068 و 0.073 g/210 L. تم تحديد التراكيز المسموح بها في هواء الزفير 0.08 g/210 L (BrAC) of.

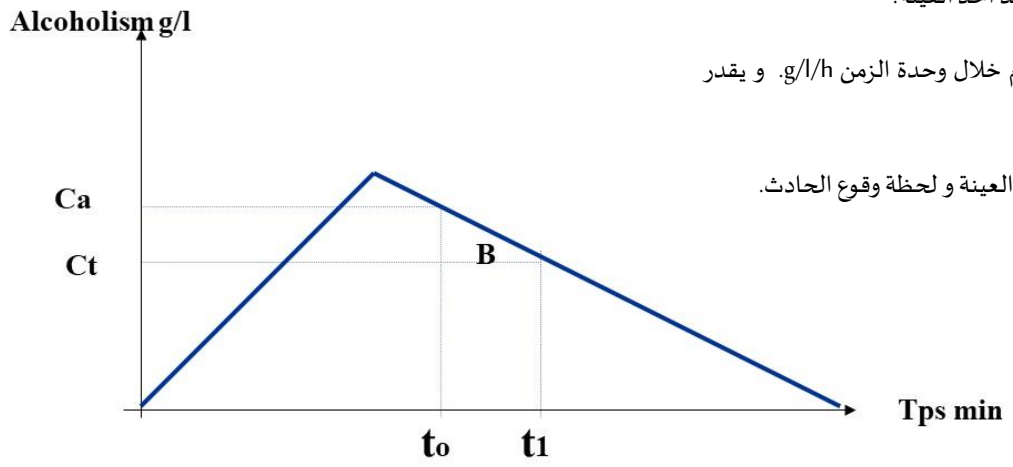
$$Ca = \beta.t + Ct$$

Ca: الكحولية في لحظة وقوع الحادث (g/l).

Ct: الكحولية التي يتم حسابها بعد أخذ العينة.

β: سرعة طرح الايتانول من الدم خلال وحدة الزمن g/l/h. و يقدر وسطيا ب 0,13 g/l/h:

T: الزمن الفاصل بين لحظة أخذ العينة و لحظة وقوع الحادث.



يتم إجراء حسابات (back calculation:a retro) لتحديد نسبة الكحولية في الدم لحظة وقوع الحادث. ولكن هذه الحسابات غير قابلة للتطبيق إلا في حال مرور ساعتين على الأقل على آخر استهلاك للكحول.

في هواء الزفير إن أقل قيمة و أعلى قيمة للعامل β هو *g/210 L/h,* (0,029-0,009)

في مثالنا تركيز الكحول في هواء التنفس *نتيجة* الاختبار Ct =0,0705 g/210L. و الزمن الفاصل بين توقيف السائق و اجراء الاختبار 2,5 ساعتين و نصف

for β = 0.009 g/210 L/h: B1 = 0.0705 +(0.009)(2.5) = 0.0930 g/210 L

for β = 0.029 g/210 L/h: B1 = 0.0705 +(0.029)(2.5) = 0.143 g/210 L

Widmark's equation

إن السؤال الذي يطرح كجزء من التحقيق في DUI هو كمية الكحول المتناولة و التي تسببت في ظهور تراكيز الكحول التي تم تحديدها في هواء الزفير أو الدم. تحسب كمية الكحول المستهلكة A تبعا لعدة متغيرات مقدرة بالغرام من خلال

معادلةwidmark:

W: الوزن بالكغ

R: حجم التوزع (0.7 L/Kg للرجال.0.6 L/Kg للنساء).

$$A = W.r.(\beta.t + Ct)$$

R: حجم التوزع (0.7 L/Kg للرجال.0.6 L/Kg للنساء). **Ct**: الكحولية g/l. **W**: الوزن بالكغ. β هو معدل استقلاب الكحول في وحدة الزمن. **T**: الزمن المنقضي بعد تناول اخر كأس

يتم حساب الدرجة الكحولية (VOL%) من خلال:

(حجم السائل الكلي/حجم الكحول النقي) x 100

R : حجم الكحول النقي= كمية الكحول النقي مقدرة بالغرام (A) x كثافة الكحول (0.8).

غالبا ما يتم طرح السؤال التالي كجزء من التحريات المجراة في حالة ال DUI " ماهي كمية الكحول المتناولة المتوقع تناولها من الجانح الموافقة للBAC. غالبا ما يصرح الجانح بنوع المشروب و لا يعطي معلومات دقيقة عن الكمية التي تناولها

تقدر عدد الكؤوس المتناولة من الكحول:

$$N = \frac{\mathbf{Wr(Ct + \beta.t)}}{\mathbf{0,8z}}$$

Z : الدرجة الكحولية %VOL

انتهت المحاضرة