

ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA EM RELAÇÃO AO TEMPO NA CONCENTRAÇÃO DE ETANOL NO SANGUE DE PERICIANDOS NO ESTADO DE MATO GROSSO

Brenna da Costa Silva¹; Bruna Dziachan Marques¹; Belgath Fernandes Cardoso²

RESUMO

O sangue é o componente biológico mais utilizado como amostra para a quantificação dos níveis de etanol especialmente naqueles envolvidos em delitos de trânsito, contribuindo para elucidação destes. Para tanto, a Diretoria Metropolitana de Laboratório Forense (DMLF) da Perícia Oficial e Identificação Técnica (POLITEC) realiza os exames de alcoolemia do estado de Mato Grosso (MT), incluindo casos *post mortem*. Porém, devido às longas distâncias e condições térmicas, características do MT, o período entre coleta e análise destas amostras são submetidos a faixas de temperatura mais elevadas do que aquelas verificadas em estudos prévios. Neste sentido, objetivou-se avaliar a influência da temperatura em relação ao tempo de armazenamento nas concentrações de etanol no sangue em indivíduos *post mortem*. Desta forma, coletou-se três amostras *post mortem* de 18 indivíduos e monitorou-se a possível variação na concentração de etanol em três temperaturas diferentes, -4°C, 20°C e 35°C aproximadamente. Fora realizada análises sequenciais, por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama, no qual fora detectada presença de etanol em cinco indivíduos. As análises se deram no mesmo dia da coleta, com 14, 28, 42 e 56 dias, e notou-se a diminuição da concentração de etanol com o aumento de tempo, portanto, conclui-se que há necessidade de adequação a respeito das condições de armazenamento dessas amostras, e ainda, faz-se necessário estudos aprofundados para afirmar a causa das variações observadas, visto que é um fator de grande relevância para a perícia criminal no âmbito do MT.

Palavras-chave: Alcoolemia; periciandos; cromatografia gasosa; Mato Grosso.

ABSTRACT

Blood is the biological component most commonly used as a sample for the quantification of ethanol levels, especially those involved in traffic offenses, contributing to their elucidation. To do so, the Metropolitan Forensic Laboratory Board (DMLF) of the Official Expertise and Technical Identification (POLITEC) performs blood alcohol tests in the state of Mato Grosso (MT), including post mortem cases. However, due to the long distances and thermal conditions, characteristics of the MT, the period between collection and analysis of these samples are subjected to higher temperature ranges than those verified in previous studies. In this sense, the purpose of this study was to evaluate the influence of temperature and storage time on blood alcohol levels in post-mortem individuals. In this way, three post-mortem samples were collected from 18 individuals and the possible variation in the ethanol concentration was monitored at three different temperatures, -4°C, 20°C and 35°C approximately. Sequential analyzes were performed by gas chromatography with flame ionization detector, in which ethanol was detected in five individuals. The analyzes were carried out on the same day of collection, with 14, 28, 42 and 56 days, and it was noted that the ethanol concentration decreased with the increase of time, therefore, it is concluded that there is a need for adequacy regarding the storage conditions of these samples, and further studies are necessary to confirm the cause of the observed variations, since it is a highly relevant factor for the criminal investigation within the MT.

Keywords: Alcohol; periciandos; gas chromatography; Mato Grosso.

¹Discente do curso de Biomedicina no UNIVAG – Centro Universitário de Várzea Grande.

²Docente do curso de Biomedicina do UNIVAG – Centro Universitário de Várzea Grande.

1 INTRODUÇÃO

A identificação quantitativa de etanol em uma amostra de sangue possui importância jurídica por materializar a condição do indivíduo em relação a ingestão de etanol, uma vez que leis específicas tipificam a condução de veículo automotores sob influência de álcool em qualquer concentração (etanol por litro) ou podem agravar o delito principal. Com a precisão obtida atualmente das técnicas analíticas, existe um elevado grau de certeza associado com a determinação quantitativa de etanol encontrado numa amostra biológica. No entanto, é necessário definir se o etanol encontrado é derivado de formação microbiana *post-mortem* ou se estas concentrações decorrem da ingestão de etanol *ante-mortem*, sendo que este último possui relevância na interpretação jurídica dos resultados (LEWIS et al. 2004).

Dentre alguns dias após morte, o primeiro sinal de atividade bacteriana é normalmente a coloração esverdeada da pele que cobre a parte inferior do abdômen, que eventualmente se espalha para outras partes do corpo e um cheiro pútrido torna-se aparente. Gases odorosos, como hidrogênio, alquil sulfetos e metano são produzidos em um cadáver putrefato junto com etanol e muitos outros produtos voláteis de baixo peso molecular. Estes produtos de putrefação incluem diversos voláteis-redutores e isto representa um significativo problema analítico, que perdura há mais de 50 anos, quando os métodos de oxidação de substâncias químicas não específicas de análise foram utilizados em laboratórios de toxicologia forense (JONES, 2010).

O etanol é um dos compostos orgânicos que pode sofrer oxidação na presença de oxigênio, através de uma reação química. Esse processo onde uma das substâncias perde elétrons (oxida), enquanto conseqüentemente a outra ganha elétrons (reduz), é conhecido como oxirredução. Quando essa reação acontece o etanol se transforma em um novo composto, um deles seria o ácido acético, e é o que acontece quando o vinho exposto ao oxigênio do ar, origina o vinagre (MADURO, 2017).

A matriz biológica mais utilizada para a quantificação de etanol é o sangue total, sendo composto por trilhões de eritrócitos, responsáveis pelo armazenamento e transporte de oxigênio para todo o organismo, ele está presente em maior abundância na circulação arterial. Logo, existe a possibilidade de interação, entre o oxigênio dos eritrócitos com o álcool circulante no sangue, através da reação de oxirredução (NAOUM, 2008).

Atualmente, no Mato Grosso, o período de confiabilidade para realização das análises toxicológicas de alcoolemia, é embasado nos conceitos de Winek e Paul (1983), que demonstraram que amostras de sangue coletadas em tubos sem conservantes, de indivíduos voluntários após a ingestão controlada de bebida alcoólica e armazenadas a temperatura

ambiente ou refrigeradas a 4°C, durante um período de 14 dias, não apresentou alteração significativa, mesmo na ausência de conservantes. Porém, cabe ressaltar, a inexistência de estudos recentes sobre o tema a nível nacional, o que fragiliza o embasamento técnico destes exames.

A conservação de amostras coletadas *post mortem* podem sofrer influência perante a forma de armazenamento e período de tempo, podendo ter um aumento significativo de etanol (YAJIMA et al., 2006), possivelmente explicado pelo processo de fermentação alcoólica através de microorganismos, como as leveduras, já que, estas são capazes de produzir etanol utilizando piruvato, um subproduto do processo de quebra da molécula de glicose, chamado de glicólise (BARNETT, 2003).

Diante disto, para uma aferição confiável da concentração de etanol no sangue é preciso descartar qualquer tipo de produção endógena de etanol, como por exemplo, a fermentação alcoólica realizada por microrganismos. Nesse sentido, a POLITEC, com base em literatura científica, preconiza que todo sangue para exame de alcoolemia deve ser coletado em tubo a vácuo contendo fluoreto de sódio, um conservante que interrompe a fermentação alcoólica realizada pelo metabolismo microbiano, no momento em que o consumo de glicose acontece (BAYNES, 2015).

Isto se deve ao fato da enolase (fosfopiruvato hidratase), uma enzima responsável pela conversão de 2-fosfoglicerato em fosfoenolpiruvato, durante a oxidação da via glicolítica, ser inibida através da interação com o fluoreto de sódio (BAYNES, 2015). O tubo coletado também deve permanecer refrigerado até o momento da análise, por um período de no máximo 14 dias após a coleta, pois assim elimina-se, ou minimiza o efeito da produção de etanol por fermentação alcoólica no sangue (WINEK & PAUL, 1983).

A Resolução nº. 432 de 23 de janeiro de 2013 do Conselho Nacional de Trânsito obriga, em seu artigo 11º, a aferição da concentração de etanol no sangue, também chamado de alcoolemia, de vítimas fatais de acidente de trânsito. Essa exigência gera uma demanda 740 solicitações de exames de alcoolemia para o ano de 2018. O procedimento de dosagem de etanol no sangue inicia-se na POLITEC, na unidade de Medicina Legal, onde é coletado o sangue dos periciandos para posterior encaminhamento e análise na Gerência de Perícias em Toxicologia Forense (GPTF), unidade subordinada à Diretoria Metropolitana de Laboratório Forense (DMLF), que é responsável por realizar todas as alcoolemias do estado de Mato Grosso (MT).

Considerando a conservação e armazenamento temporário das amostras de sangue coletadas na unidade de Medicina Legal, além do clima tropical do nosso estado e a logística

para o transporte dessas amostras à capital, que chega a superar 1000 km entre regiões, observa-se que a manutenção da temperatura e os prazos úteis sugeridos nas literaturas por vezes não são factíveis. Portanto, faz-se necessário analisar a variação da quantidade de etanol no sangue por meio de comparação, inferindo, desta forma, a origem *ante* ou *post mortem* do etanol.

Neste sentido, objetivou-se avaliar matrizes biológicas destinadas à alcoolemia, submetendo amostras coletadas de 18 indivíduos, em três faixas de temperatura, analisadas em cinco períodos de tempo, com a finalidade de se verificar até quanto tempo após a coleta, com armazenamento específico, os resultados gerados seriam confiáveis para posterior análise jurídica do caso.

2 METODOLOGIA DA PESQUISA

Trata-se de uma pesquisa de cunho experimental descritivo, realizada através da coleta de resultados dos exames de dosagem alcoólica no sangue, analisadas na DMLF – POLITEC/MT. A pesquisa teve como foco a região metropolitana de Cuiabá/MT, iniciada na Diretoria Metropolitana de Medicina Legal (DMML), com o acompanhamento da coleta de amostras de sangue dos periciandos *post mortem*, destinados ao exame de dosagem alcoólica, sob aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Centro Universitário de Várzea Grande, conforme resolução CNS 466/2012, sob parecer 3.390.483.

As condições dos indivíduos participantes obtiveram a dispensa do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para o prosseguimento dessa pesquisa. No entanto, existe um Termo de Autorização para Pesquisa Científica expedido pela POLITEC, haja vista que o grupo incluído foi de indivíduos em condições *post-mortem*, já atendidos por requisições de perícia que são solicitadas por autoridades públicas competentes. Ressalta-se ainda, que as informações obtidas preservaram em anonimato as identidades impossibilitando assim qualquer tipo de associação entre a pessoa e o seu resultado.

Foram efetuadas três coletas de sangue arterial vias subclávia e femoral para cada periciando, no período de quatro meses, realizadas por Peritos Oficiais Médicos Legistas, pertencentes a Diretoria DMML – POLITEC, e armazenadas em tubo coletor a vácuo, estéril, contendo fluoreto de sódio (6 mg) como conservante, sendo identificados com o nome da amostra e a faixa de temperatura de armazenamento, e encaminhadas imediatamente para a DMLF, onde passaram pelas análises pertinentes ao exame de dosagem alcoólica. Todas as etapas foram acompanhadas pelos participantes deste projeto, garantindo a plena execução do procedimento operacional padrão (POP) vigente.

Na DMLF, as amostras foram submetidas a três faixas de temperaturas simuladas por condições distintas, sendo região externa simulando o ambiente sem controle de temperatura, com média de 35°C; ambiente fechado/refrigerado, com temperatura permanentemente de 20° C; e ambiente fechado/congelado permanentemente, no interior de freezer a -4°C.

Para avaliar a influência do intervalo de tempo entre a coleta e análise, sob a concentração de etanol no sangue, as amostras foram analisadas no dia da coleta (d₀), no 14°, 28°, 42° e 56° dias após a coleta. Como controle do estudo, adotaram-se os resultados obtidos no dia da coleta. Concomitantemente ao intervalo de tempo, aferiu-se a influência da variação da temperatura de acondicionamento das amostras.

O preparo das amostras foram realizados com 100 µL (microlitros) de isopropanol P.A. (99,9% de dosagem) utilizado como controle interno, um grama de cloreto de sódio P.A. (NaCl 99% de pureza) e 10 (dez) µL da matriz biológica dentro de vials de Head Space de 10 mL, sendo analisadas através do Cromatógrafo Gasoso modelo Trace GC Ultra com Detector por Ionização de Chama e amostrador modelo TriPlus da marca Thermo (GC-FID) da DMLF.

A análise estatística fora expressa em forma de tabela eletrônica em que todos os resultados foram apresentados em números absolutos, obtidos através da dosagem alcoólica em GC-FID. Para análise da positividade, considerou-se que, em métodos sensíveis, pequenas alterações nas concentrações das amostras causam uma variação significativa no resultado analítico medido, sendo confiáveis resultados igual ou superiores a um decigrama por litro (1,0 dg/L), desta forma, resultados com valor inferior ao *cut off* supracitado foram considerados negativos, já que não possuem uma confiança analítica adequada para a utilização na prática forense analítica.

Os resultados foram classificados como negativos ou positivos, sendo utilizado como critério de inclusão apenas as amostras de controle imediato com resultado superior ao *cut off*.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisadas, na DMLF, 18 amostras de 4 mL (quatro mililitros) de sangue total (Tabela 1) coletadas em tubo com fluoreto de sódio de periciandos *post-mortem*, com requisição de dosagem alcóolica no sangue, no período de maio à setembro de 2018.

Tabela 1: Resultados obtidos na análise imediata em relação às amostras coletadas no período de maio a setembro de 2018 na POLITEC, em dg/L.

Amostras	Controle imediato	Amostras	Controle imediato
01	0,00	10	0,38
02	0,22	11	0,00
03	0,96	12	0,66
04	0,00	13	0,47
05	0,00	14	27,59
06	0,33	15	26,59
07	0,19	16	26,03
08	0,23	17	13,21
09	0,79	18	1,96

As amostras coletadas em triplicata dos periciandos passaram pelos exames de alcoolemia levando em consideração o período de tempo de 14, 28, 42 e 56 dias, sendo a análise imediata, realizada no dia de coleta (d_0), aplicada como controle do estudo.

A coleta de cada periciando está de acordo com as condições em que estas foram armazenadas, pois o estudo expressa três principais variáveis de temperatura, $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$, $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $35\text{ }^{\circ}\text{C}$, ou seja, cada tubo de amostra fora agrupado de acordo com as condições de temperatura submetidas.

Diante disto, observou-se que cinco das 18 amostras coletadas, apresentaram resultados positivos, e 13 apresentaram resultado menor que $1,0\text{ dg/L}$ na análise controle, consequentemente, essas amostras não foram aceitas no critério de inclusão da pesquisa porque estavam abaixo do valor do *cut off*, desconsiderando, assim, os valores negativos.

Para as amostras positivas foi adotado um valor de 5% de variação inferior e superior em relação a amostra controle para serem analisadas, visto que podem ocorrer pequenas interferências durante a análise no aparelho, desta forma todos os resultados que apresentaram uma alteração significativa em seus valores entraram no critério de discussão.

Tabela 2: Cálculo da variância em relação ao controle imediato das amostras significativas, em dg/L.

Amostras	Controle imediato	Limite Inferior	Limite Superior
14	27,59	26,21	28,97
15	26,59	25,26	27,92
16	26,03	24,73	27,33
17	13,21	12,55	13,87
18	1,96	1,86	2,06

Os resultados não demonstrados (Tabela 3) são em razão de problemas técnicos no aparelho GC-FID, utilizado para a realização de todos os exames de dosagem alcoólica da POLITEC.

Tabela 3: Resultados obtidos na análise imediata em relação às amostras submetidas à temperatura de -4 ° C, em dg/L.

Amostras	Controle imediato	1ª Análise (14 dias)	2ª Análise (28 dias)	3ª Análise (42 dias)	4ª Análise (56 dias)
14	27,59	-	27,33	29,39	-
15	26,59	26,78	24,12	27,68	28,09
16	26,03	25,42	26,32	-	23,90
17	13,21	12,61	12,82	-	12,84
18	1,96	1,67	1,00	0,43	-

O controle imediato faz referência às amostras abertas e imediatamente analisadas no dia da coleta, apenas um dos três tubos coletados foi analisado e seu resultado utilizado como controle nas três faixas de temperatura adotadas. Essas amostras foram conservadas, acondicionadas em freezer, congeladas na temperatura de -4 °C.

Nessa faixa de temperatura é possível observar que em algum momento do período de análise as amostras 14, 15, 16 e 18 demonstram atividades de perda ou/e ganho significativo, com variação superior ou inferior à estipulada pelos pesquisadores de 5%, na concentração de álcool no sangue.

Com referência as amostras conservadas a -4°C, observa-se que a amostra 18 apresentou resultado muito próximo à margem de *cut off*, na segunda análise (28 dias após a coleta) seu resultado aparece equivalente ao ponto de corte e em seguida fica abaixo da faixa esperada na terceira análise (42 dias após a coleta) configurando um resultado negativo. Nota-se que até a primeira análise (14 dias após a coleta), as demais amostras não sofreram alterações, e todas as amostras permaneceram positivas, portanto para este formato de conservação o ideal seriam que as análises fossem realizadas em até 14 dias, como demonstrado por Winek e Paul (1983).

Estes realizaram um estudo com amostras de sangue, porém coletadas em tubos sem conservantes, de indivíduos voluntários após a ingestão controlada de bebida alcoólica e armazenadas a temperatura ambiente ou refrigeradas a 4 °C, durante um período de 14 dias.

Concluiu-se que apesar da ausência do conservante não houve alteração significativa da concentração de etanol presente nas amostras.

O aumento na concentração original de etanol no sangue, verificado à partir da terceira análise (42 dias, após a coleta) nas amostras 14 e 15 pode ser decorrente da fermentação microbológica, o que corrobora o achado por Yajama (2006), que ao realizar estudos com a levedura *Cândida albicans*, em amostras de sangue com adição de glicose, os níveis de etanol atingiram rapidamente um pico de produção de etanol. Ainda, observa-se que medida em que a glicose foi consumida o etanol apresentou perda gradual em sua concentração, exibindo que, sem esse substrato os microorganismos não são capazes de prosseguir com o processo de fermentação alcoólica.

O estudo de Yajama, feito no Japão, com amostras de sangue *post-mortem* armazenadas em tubo coletor, sem conservante, a temperatura de $6^{\circ} \text{C} \pm 4^{\circ} \text{C}$, no qual apresentou um aumento significativo no nível de etanol na amostra em determinado período de tempo. No primeiro caso a concentração passou de 5,9 dg/L para 49,0 dg/L em um período de 22 dias, e no segundo caso de 21 dg/L para 96 dg/L em 20 dias. Esse aumento pode ser explicado pelo processo de fermentação alcoólica através de microorganismos, como leveduras. Elas são capazes de produzir etanol utilizando piruvato, um subproduto do processo de quebra da molécula de glicose, chamado de glicólise (BARNETT, 2003).

A amostra 15 que, entre a 1ª e a 2ª análise, sofreu uma perda na concentração de álcool, aparece com um aumento na concentração nas análises seguintes, e por isso apresenta um comportamento singular em comparação as outras amostras, que só diminuem ou aumentam a concentração de etanol no sangue.

Quanto as amostras que resultaram apenas em perda da concentração de álcool no sangue, a amostra 16 registra essa atividade apenas em sua última análise, aos 56 dias.

Tabela 4: Resultados obtidos na análise imediata em relação às amostras submetidas à temperatura de 20°C , em dg/L.

Amostras	Controle imediato	1ª Análise (14 dias)	2ª Análise (28 dias)	3ª Análise (42 dias)	4ª Análise (56 dias)
14	27,59	-	29,07	25,91	-
15	26,59	25,84	18,13	20,40	18,68
16	26,03	24,84	24,33	-	14,07
17	13,21	11,78	6,86	-	9,66
18	1,96	0,20	0,02	0,00	-

Na temperatura controlada à 20 °C permanentemente (Tabela 4), as amostras 15, 16, 17 e 18 apresentam comportamento similar, desde a 1ª até a 4ª análise, onde houveram apenas perdas significativas de etanol, demonstrando que o armazenamento em refrigeradores não devem ser viáveis as análises, sob a possibilidade de gerar resultados falso negativo.

Observa-se que a amostra 18 sofreu perda significativa, apresentando-se abaixo do *cut off* já na segunda análise (14 dias após a coleta), e está permanece negativa. Esse fato coloca em questionamento os valores negativos, pois como observado, valores baixos são mais imprecisos e podem apresentar maiores variações.

Um comportamento interessante e isolado é notável somente em relação a amostra 14 quando comparada as outras, que foram submetidas a essa mesma temperatura, pois no dia da 2ª análise observa-se um aumento significativo na concentração de etanol no sangue, comparado ao do, na análise seguinte (3ª), expressa um decréscimo na concentração de etanol. Nos casos de aumento nos índices de álcool pode estar relacionado a atividade microbiana, como observado nas amostras submetidas ao congelamento (-4°C).

A partir da 2ª até a 4ª análise, todas as amostras demonstram uma variação inferior a 5%, em relação ao valor inicial obtido na análise de controle imediato. As amostras 15 e 16 sofrem uma perda significativa somente no 28º dia após a coleta. Já as amostras 17 e 18 demonstram esse comportamento logo ao 14º dia, 1ª análise. Como já mencionada anteriormente (Tabela 3), a amostra 18 que possui um valor muito próximo ao ponto de corte, nessa variável (20 ° C), além de sofrer mais rapidamente com essa perda de álcool, tende a ser negativa desde a sua 1ª análise.

Como já citado, os valores de controle foram obtidos das amostras submetidas à variável de -4° C (Tabela 3), portanto todos os tubos armazenados nessa faixa de temperatura só foram abertos no dia da 1ª análise, sendo assim esses resultados podem ser em decorrência tanto de perdas físicas, como a evaporação ou químicas, como acontece na oxirredução. Nos estudos de Shan (2011), foi possível concluir que o armazenamento à longo prazo de amostras sob refrigeração ou à temperatura ambiente apresentaram uma diminuição na concentração de álcool no sangue, indicando que a reanálise após o armazenamento resulta em valores mais baixos do que os verdadeiros no momento de coleta.

Tabela 5: Resultados obtidos na análise imediata em relação as amostras submetidas à temperatura de 35 ° C, em dg/L.

Amostras	Controle imediato	1ª Análise (14 dias)	2ª Análise (28 dias)	3ª Análise (42 dias)	4ª Análise (56 dias)
14	27,59	-	27,62	26,54	-
15	26,59	23,43	22,30	22,79	20,39
16	26,03	24,46	22,01	-	11,53
17	13,21	11,40	2,70	-	8,50
18	1,96	1,53	0,25	0,00	-

Todas as amostras armazenadas à 35° C (Tabela 5), sofreram com a diminuição na concentração de etanol no sangue, desde o 14º dia após a coleta. Desde então houve perda considerável nas concentrações de álcool, sugerindo que talvez a evaporação não seja a maior consequência desses resultados, mas que esse acontecimento envolve tanto temperaturas mais elevadas, assim como uma outra reação, em que ocorre uma perda química.

Isto corrobora com os estudos de Winek (1996), que verificou uma atividade oxidante do álcool em contato com o oxigênio presente nos glóbulos vermelhos, quando coletou dois tubos de um mesmo indivíduo e chamou de tubo A e B. Eles foram submetidos a uma mesma temperatura de 36° C, e ao longo das análises em ambos foram detectados a diminuição do etanol, no entanto, o tubo B só foi aberto e analisado no 35º dia após à coleta, e mesmo assim apresentou perdas significativas de etanol.

Nesse caso é possível observar que a causa de perda não envolve somente o processo de evaporação, a oxidação química se mostra fortemente ligada a elevadas temperaturas nas amostras de sangue total. Esse sangue rico em oxigênio, quando entra em contato com o etanol é capaz de sofrer reações de oxirredução e se transformar em outro composto. O equipamento (GC-FID) é específico para identificação de álcoois primários, sendo assim, outros compostos como, por exemplo o ácido acético, que pode ser originado por essa reação, não possui relevância na detecção.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se com o auxílio de estudos já realizados, que as amostras de sangue em periciandos mortos podem se comportar de três maneiras diferentes. Sendo possível, quando comparados a amostra controle, um aumento nos resultados pela ação microbiana ou a diminuição, por evaporação do etanol ao abrir o tubo ou devido a uma reação de oxirredução. No presente estudo foi evidenciado uma diminuição mais abundante do etanol, devido as

condições de clima tropical do estado estarem fortemente ligadas aos processos capazes de causar a redução do etanol.

O estudo realizado é de suma importância para o estado de Mato Grosso, pois, além de não existir pesquisas nessa área, a Resolução nº. 432 de 23 de janeiro de 2013 do Conselho Nacional de Trânsito obriga, em seu artigo 11º, a aferição da concentração de etanol no sangue em vítimas fatais de acidente de trânsito.

Portanto, é necessário que haja uma pesquisa mais aprofundada para que seja comparada às demandas da POLITEC, que representa o Estado, pois com o número de amostras utilizadas, os resultados obtidos e as interferências enfrentadas, não é possível uma afirmação da forma de armazenamento adequada para um resultado confiável por mais tempo. Porém, pode se afirmar que, quanto mais rápido for a realização das análises mais baixa a temperatura em que às amostras são armazenadas, mais confiáveis e fidedignos serão os resultados, demonstrando a necessidade de melhoria da logística de transporte das amostras e realização da dosagem.

REFERÊNCIAS

ATHANASELIS, S.; STEFANIDOU, M.; KOUTSELINIS, A. Interpretation of postmortem alcohol concentrations. **Forensic Science International**. v. 149, p. 289-291, 2005.

BARNETT, J. A. A history of research on yeasts 5: **The fermentation pathway**. v. 20, p. 509-543, 2003;

BAUER, M. E; JECKEL-NETO E. A. **Avanços em Biologia Celular**. EdIPUCRS 2002.

GRUSZECKI, A. C.; ROBINSON, C. A.; KLODA, S.; BRISSIE, R. High Urine Ethanol and Negative Blood and Vitreous Ethanol in a Diabetic Woman. **The American Journal of Forensic Medicine and Pathology**. v. 26, n 1, p. 96-98, 2005.

GUTIERREZ L. E., AMORIM H.V., BASSO L.C. **Inibidores da Fermentação Alcoólica**. 1991.

JONES, A. W. Evidence-based survey of the elimination rates of ethanol from blood with applications in forensic casework. **Forensic Science International**. v. 200, p 1-20, 2010;

KUGELBERG, F. C.; JONES, A. W. Interpreting results of ethanol analysis in postmortem specimens: A review of the literature. **Forensic Science International**. v. 165, p. 10-29, 2007.

LEWIS, R. J.; JOHNSON, R. D.; ANGIER, M. K.; VU, N. T. Ethanol formation in unadulterated postmortem tissues. **Forensic Science International**. v. 146, p. 17-24, 2004.

MADURO E. J. G.; HESS L. F. S.; ROMANO M. Bebidas Alcoólicas: uma abordagem de conceitos e experimentos. **Laboratório de Pesquisa em Ensino de Química e Tecnologias Educativas**, 2017. Disponível na internet:
http://www.lapeq.fe.usp.br/minicurso/pdf/mc_2017_ma_alcool_v2.pdf, acesso em 20/06/2019 as 15:30.

MARTINIS, B. S. De.; MARTIN, C. C. S. Automated headspace solid-phase microextraction and capillary gas chromatography analysis of ethanol in postmortem specimens. **Forensic Science International**. v. 128, p. 115-119, 2002.

NAOUM P. C.; NAOUM F. A. Hematologia Laboratorial Eritrócitos. **Edição da Academia de Ciência e Tecnologia**, 2008. Disponível na internet:
http://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/livros/aceso_gratuito/Livro_completo%20-%20Hematologia%20Eritrocitos.pdf, acesso em 20/06/2019 as 17:30.

RODDA, L. N.; BEYER, J.; GEROSTAMOULOS, D.; DRUMMER, O. H. Alcohol congener analysis and the source of alcohol: a review. **Forensic Science, Medicine and Pathology**. v. 9, p. 194-207, 2013.

SHAN X, TISCIONE B. N., ALFORD L., YEATMAN D. T. **A study of blood alcohol stability in forensic antemortem blood samples**. p. 47-50, 2011.

WINEK, T.; WINEK, C. L.; WAHBA, W. W. The effect of storage at various temperatures on blood alcohol concentration. **Forensic Science International**. v. 78, p. 179-185, 1996.

WINEK, C. L.; PAUL, L. J. Effect of Short-Term Storage Conditions on Alcohol Concentrations in Blood from Living Human Subjects. **Clinical Chemistry**. v. 29, p.171959-1960, 1983.

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 Science International**. v. 164, p. 116-121, 2006.