

# **EEN NARRATIEVE REVIEW VAN DE RECENTE INZICHTEN OMTRENT DIAGNOSTISCHE WAARDEN VAN TEKENEN VAN DE VERDRINKINGSDOOD**

**Brit Bonte**

Stamnummer: 01904581

Promotor: Prof. dr. Geert Van Parys

Copromotor: dr. Evy De Boosere

Masterproef voorgelegd in het kader tot het behalen van de graad Master of Medicine in de Geneeskunde

Academiejaar: 2022 - 2024

## Voorwoord

Graag wil ik mijn promotor prof. dr. Van Parys bedanken voor zijn advies en begeleiding. Ik apprecieer de tijd die hij zich nam om mij inzichten en ideeën te geven. Ook heeft dr. De Boosere mij handige tips gegeven en me met raad en daad bijgestaan. Beiden wil ik van harte bedanken om mijn interesse voor dit vak verder te vergroten. Deze paper heeft me immers de kans gegeven me toe te leggen op dit bijzondere onderwerp.

Een welgemeende dank gaat ook uit naar mijn ouders die mij doorheen het schrijven van deze paper gesteund hebben.

Brit Bonte

Gent, 9 november 2023

## Maatschappelijke outreach

De diagnose van de verdrinkingsdood is één van de moeilijkste. Vooral het verschil tussen effectieve verdrinking en dumping van een lijk in water is moeilijk te maken. Er zijn geen tekenen die uitsluitend bij verdrinkingsdood voorkomen. Door frequente overlap van tekenen met andere doodsoorzaken of ziektes is de diagnosestelling dus uitdagend. Aangezien er geen absoluut aanwijzend teken is voor verdrinking, moet er gewerkt worden met een combinatie van suggestieve tekenen en uitsluiting van andere doodsoorzaken. Alle puzzelstukjes moeten nu eenmaal samen passen en door samenlegging van alle bewijsstukken kan de diagnose vaak wel gesteld worden. Het totaalplaatje moet kloppen. Deze paper gaat na wat de effectieve waarde is van de kenmerken die onderzocht worden bij diagnose. Met andere woorden: hoe goed bewijzend is een teken voor de verdrinkingsdood? Door te bestuderen wat er reeds onderzocht is in de literatuur kan de onderzoeker beter stellen welke tekenen effectief van waarde zijn, en welke eigenlijk weinig meerwaarde hebben. Wetenschappelijke studies die de frequentie van deze tekenen onderzoeken zijn van cruciaal belang om een zicht te krijgen op volgende twee vragen: Hoe vaak komt dit teken voor bij verdrinken mensen? Is het teken ook te zien bij doden die niet verdrinken zijn? Deze twee vragen bepalen hoe waardevol een teken is bij het onderzoeken van een lijk gevonden in het water.

Deze paper gaat ook na of er reeds een diagnostische test of marker in ontwikkeling is die de nieuwe gouden standaard kan worden. Idealiter zou zo een dergelijke marker enkel bij verdrinken personen aanwezig zijn en nooit in andere gevallen. Misschien is dit in de toekomst mogelijk door een PCR-test die bepaalde micro-organismen meet die enkel in die grote hoeveelheden kunnen binnengedrongen zijn tijdens het verdrinkingsproces. Een dergelijke PCR-test zou dan met één enkele staalname een resultaat kunnen geven. Zo hoeft er geen invasieve en arbeidsintensieve autopsie te gebeuren en zou er snel bekend zijn wat de doodsoorzaak is. Voorlopig is dit niet aan de orde. Wel wordt in onderzoek al geprobeerd om de CT-scan in te zetten om een lijk te beoordelen in plaats van de klassieke lijkschouwing van het lichaam. Indien CT-scan als nuttig alternatief toepasbaar wordt, dan kan de autopsie mogelijks achterwege gelaten worden. Diagnosestelling kan eventueel sneller gemaakt worden door inzet van artificiële intelligentie die bijvoorbeeld longfoto's van waterlijken beoordeelt en deze classificeert in verdrinking of niet-verdrinking. Dit is echter toekomstmuziek en voorlopig blijft de klassieke manier nodig: alle puzzelstukjes samenleggen en kijken of het totaalplaatje klopt.

Een overzicht van hoe bewijzend een verdrinkingsteken is kan dienst doen in rechtszaken. Om te oordelen over bewijslast, is inzicht nodig. Deze paper geeft een genuanceerd beeld van het wetenschappelijk bewijs van enkele verdrinkingstekenen dat voorhanden is. Indien een inschatting gemaakt moet worden over hoe zeker het is dat een persoon effectief verdronken is (en bijvoorbeeld niet gedumpt is in het water na vermoord te zijn), kan deze paper doorgenomen worden. Aangezien er geen teken bestaat dat 100% bewijzend is, is de conclusie vaak ook niet simpelweg of een kenmerk veel of geen meerwaarde heeft, meestal zit het ergens tussen de twee. Deze paper kan echter wel worden gebruikt om meer inzicht te verwerven en voeling te krijgen met de begrippen van diagnostische waarde. Iedereen die betrokken is bij rechtszaken of politieonderzoek van waterlijken kan voordeel hebben bij het lezen van deze paper. Natuurlijk kunnen geïnteresseerden deze paper ook doornemen om een samenvatting van de recente literatuur te bekijken.

Toekomstig onderzoek kan ook worden opgezet uit de aanbevelingen die worden geformuleerd. Zo kan er meer worden onderzocht over het gebruik van beeldvorming bij waterlijken of kan er op basis van een vermelde marker met potentieel een grootschaliger onderzoek worden opgezet om mogelijks een waterdichte test te ontwikkelen. Door van deze middelen gebruik te maken, kan de diagnose van verdrinking mogelijks vereenvoudigd worden.

## Inhoud

1. Abstract.....	1
2. Inleiding.....	2
3. Methode.....	4
4. Resultaten.....	6
4.1. Algemene begrippen en principes.....	6
4.1.1. Het verdrinkingsproces.....	6
4.1.2. Mechanisme zoet- en zoutwaterverdrinking.....	7
4.1.3. Diagnostische waarde.....	7
4.2. Diagnostische waarde van tekenen van verdrinking.....	8
4.2.1. Vocht in de sinussen.....	8
4.2.2. Milt.....	11
4.2.3. Luchtwegen.....	12
4.2.4. Gastro-intestinaal.....	17
4.2.5. Skeletbloedingen.....	18
4.2.6. Spierbloedingen.....	19
4.2.7. Diatomeeën.....	20
4.2.8. Biochemische elementen.....	20
4.2.9. Hemolytische aorta ( $\pm$ truncus pulmonalis) verkleuring.....	27
4.3. De toekomst: opkomst en potentieel van nieuwe technieken en biomarkers.....	28
4.3.1. Beeldvorming: virtopsy = virtual autopsy.....	28
4.3.1.1. Post Mortem Computed Tomography (PMCT): artificial intelligence (AI).....	29
4.3.1.2. Post Mortem MRI (PMMR).....	30
4.3.2. PCR 'snelle test'.....	30
4.3.3. Nieuwe markers met immunohistochemische kleuring.....	31
5. Discussie.....	34
5.1. Sinusvocht.....	34
5.2. Milt.....	35
5.3. Luchtwegen.....	35
5.4. Gastro-intestinaal.....	37
5.5. Skeletbloedingen.....	38
5.6. Spierbloedingen.....	38
5.7. Diatomeeën.....	38
5.8. Biochemische elementen.....	38
5.9. Hemolytische bloedvatverkleuring.....	41
5.10. Toekomst.....	41
5.11. Aanbevelingen.....	43

5.12.	Samenvattende tabel .....	44
6.	Conclusie .....	45
7.	Referentielijst .....	46

## 1. Abstract

**INLEIDING:** De diagnose van verdrinkingsdood is één van de moeilijkste, zeker het onderscheid tussen effectieve verdrinkingsdood versus post mortem dumping van een lichaam in het water. Niet elk waterlijk is immers verdronken. Een verdrinkingsteken op zichzelf is niet specifiek en/of sensitief genoeg om een sluitende diagnose te geven.

**DOELSTELLING:** Deze paper geeft een overzicht van de diagnostische waarden van verdrinkingstekenen waarover recente literatuur bestaat. Verder worden markers en technieken met potentieel voor de toekomst besproken. De aandacht wordt ook gevestigd op de rol van beeldvorming in verdrinkingsdoodcontext.

**METHODOLOGIE:** De literatuurstudie heeft geleid tot een narratieve review met publicaties uit Pubmed, Embase en Web of Science.

**RESULTATEN & DISCUSSIE:** De diagnostische waarde van een verdrinkingsteken is moeilijk te beoordelen. Ontbinding, post mortem veranderingen door het water, aanwezigheid van andere ziektes en post mortem waterinloop verstoren de beoordeling van een teken. Er bestaat geen kenmerk dat alleen maar én altijd zichtbaar is bij verdrinking. Hoewel dus geen enkel teken absoluut bewijzend is voor verdrinking, kan de combinatie van meerdere zwakke en goede tekenen een voldoende hoge waarschijnlijkheid verschaffen. Hoe meer tekenen teruggevonden kunnen worden, hoe waarschijnlijker de diagnose van verdrinkingsdood wordt. De toepassing van CT-scan kan worden ingezet voor onder andere: vochtmeting in de sinussen, longveranderingen, maaginhoud, -volume en -densiteitsbepaling. Artificiële intelligentie toont veelbelovende resultaten en wordt in de toekomst misschien wel ingezet voor het onderscheid van verdrinking versus niet-verdrinking. Onderzoek naar immunohistochemische expressie van markers leidt mogelijks tot de vondst van een marker die specifiek is voor verdrinking. Er is ook potentieel voor een microbiologische PCR-test.

**CONCLUSIE:** Aangezien geen enkel teken absoluut specifiek en/of sensitief is, blijft de diagnose van verdrinking berusten op de verzameling van zo veel mogelijk suggestieve tekenen met daarbij de exclusie van andere doodsoorzaken, alsook de elementen van het politoneel onderzoek. Mogelijks wordt in de toekomst een specifieke marker ontdekt of test ontwikkeld die de diagnose van verdrinking makkelijker kan maken. Hierop is het echter nog wachten.

## 2. Inleiding

Verdrinking is de derde hoofdoorzaak van onopzettelijke verwondingen met de dood tot gevolg. Verkeersongevallen bekleden de eerste plaats, gevolgd door valpartijen op de tweede. Jaarlijks sterven wereldwijd ongeveer 236 000 mensen aan verdrinking (1). De WHO (1) definieert verdrinking als het ervaren van respiratoir falen door onderdompeling in een vloeistof, met drie mogelijke gevolgen: dood, morbiditeit of geen morbiditeit. Deze paper focust zich enkel op de 'eigenlijke verdrinkingsdood'. Die wordt gedefinieerd door Van de Voorde (2) als: dood (primair respiratoir falen) door onderdompeling in een vloeistof (meestal water, maar alle vloeibare substanties komen in aanmerking). Het overlijden is het gevolg van mechanische verstikking door afsluiten van de luchtwegen met een vloeistof, van het gebrek aan zuurstof in het ingeademde medium en van fysiologische effecten (zoet versus zout water) (2).

Naast eigenlijke verdrinking (*true drowning*) bestaan er nog andere begrippen in het kader van onderdompeling. Hoewel deze begrippen belangrijk zijn in de bredere context rond verdrinking, zijn deze niet de focus van de paper. Bijna-verdrinking (*near-drowning*) betekent dat iemand herstelt na onderdompeling, tenminste tijdelijk. Indien het slachtoffer na een initiële verbetering toch achteruit gaat, wordt gesproken van secundaire verdrinking. Dit is het gevolg van ontwikkeling van longoedeem die die longfunctie doet verslechteren. Dit fenomeen vindt meestal plaats in de eerste twaalf uur, maar is mogelijk tot enkele dagen na het initiële incident. Het volgende begrip is hyperventilatieverdrinking. Het komt voor bij jonge zwemmers die met opzet hyperventileren om hun afstand onder water te verlengen. Dit veroorzaakt een hypocapnie, waardoor de fysiologische stimulus voor luchthappen wegvalt en de zwemmer bewusteloos raakt van hypoxie en dan verdrinkt (3).

Om de diagnose te stellen van verdrinking dient met drie principes rekening gehouden te worden. Ten eerste zijn niet alle waterlijken verdronken. Ten tweede bestaan er geen specifieke (wel typische) verdrinkingstekens: het is een diagnose *per exclusionem*. Ten derde verdwijnen verdrinkingstekens met de tijd. Met deze drie principes van Van de Voorde (2) wordt al een groot deel belicht van het probleem "diagnosestelling van verdrinkingsdood". Kortom, zoals Piette en De Letter (4) concluderen, is verdrinking een moeilijke diagnose. Er zijn geen pathognomonische tekenen zijn die enkel te zien zijn bij verdrinking. De diagnose wordt nu gesteld door een combinatie van pathologische tekenen bij autopsie, medische geschiedenis van de patiënt, gecorreleerd aan de elementen van het politionele onderzoek (getuigenissen, omstandigheden, voorgeschiedenis van persoon in kwestie, ...) en exclusie van andere doodsoorzaken (5). Om het eenvoudig te stellen, is iemand die sterft in water niet per se verdronken. De diagnose wordt extra bemoeilijkt door ontbinding, late ontdekking van



het lichaam, predatie door dieren en wijzigingen die het lijk ondergaat door in het water te liggen (6).

De onderzoeksvraag van deze paper luidt als volgt: Bestaat er een allesomvattende test/marker die de diagnose van verdrinkingsdood met zekerheid kan stellen? Hiervoor worden volgende deelvragen beschouwd: Wat is de diagnostische waarde van klassieke tekenen van verdrinkingsdood? Zijn er markers/technieken met potentieel om de diagnose van verdrinkingsdood in de toekomst te vergemakkelijken?

Het doel van deze paper is nagaan of er een onfeilbare test bestaat die de diagnose van verdrinking met zeer hoge waarschijnlijkheid kan aantonen. De bestaande literatuur beschrijft echter dat er geen pathognomonisch teken van verdrinkingsdood bestaat. Deze paper gaat na of dat effectief zo is en geeft een kritisch overzicht van de huidige (onderzochte) tekenen van verdrinking met hun diagnostische waarde en in hoeverre deze wetenschappelijk onderbouwd is. Daarnaast onderzoekt de paper welke (experimentele) markers potentieel tonen en in de toekomst kunnen bijdragen in de diagnose van verdrinking.

In tegenstelling tot de meeste publicaties over de diagnostische waarde van tekenen van de verdrinkingsdood, die slechts één of een paar markers onderzochten, zet deze paper meerdere markers samen en bespreekt voor elke marker de relevante literatuur. De waarde van deze paper is vooral toe te schrijven aan de verzameling van markers met verwijzing naar hun relevante literatuur. Verder is het maken van dit overzicht van potentiële markers interessant met zicht op de toekomst. Zo kan bekeken worden wat de huidige ontwikkelingen zijn (bijvoorbeeld: de groeiende rol van post mortem beeldvorming) en waar er potentieel zit voor verder onderzoek (bijvoorbeeld: artificiële intelligentie bij post mortem CT-scan).

In het eerste luik van deze paper wordt een overzicht gegeven van algemene begrippen, principes en pathofysiologie van de eigenlijke verdrinking die nodig zijn om deze paper te begrijpen. Het tweede luik gaat in op de huidige diagnostische tekenen met hun aantonende/uitsluitende waarde en frequentie van voorkomen. Het derde luik bespreekt markers en technieken in experimentele fase met hun mogelijke potentieel.

### 3. Methode

Deze paper is een gestructureerde narratieve review.

De zoekstrategie omvatte een literatuuronderzoek in volgende databases: PubMed, Embase en Web of Science. Het literatuuronderzoek liep van juli 2022 tot april 2023. De eerst doorzochte databank was PubMed. Hieruit komt ook de meerderheid van de publicaties uit. Vervolgens werd op Embase en Web of Science gezocht. De artikels die op Embase en Web of Science werden teruggevonden kwamen in grote mate overeen met de publicaties die reeds via PubMed geselecteerd werden.

Volgende keywords (in diverse combinaties) werden gebruikt: drowning, diagnosis. Om specifiekere topics op te sporen werden volgende keywords toegevoegd (in verschillende combinaties): *diagnostic methods/tests, (diagnostic) (bio)marker(s), (diagnostic) signs, diagnostic value, efficacy/accuracy/reliability, sensitivity, specificity, cause, CT, virtopsy, post-mortem computed tomography (PMCT), future, novel, forensic medicine, autopsy, fresh water, salt water, immersion/submersion.*

De focus ligt op recente publicaties (laatste tien jaar). Oudere publicaties werden toch geïnccludeerd indien nodig voor de vergelijking met recentere literatuur. Deze oudere publicaties zijn van belang om in beeld te brengen wat reeds onderzocht werd, en hier al dan niet op verder te bouwen. Ook werden oudere publicaties gebruikt als over het besproken topic geen recentere literatuur bestond. Over enkele tekenen van verdrinking bestaat er namelijk weinig recente literatuur, daarom werd ervoor gekozen om ook de niet-recente publicaties mee te nemen.

Van de gevonden artikels werd de titel en het abstract handmatig gescreend en werd een eerste selectie gemaakt op basis van hun relevantie naar het topic toe. De eerste beoordeling focuste zich op volgende vragen: Richt het artikel zich op de diagnose van verdrinkingsdood? Worden er tekenen van verdrinkingsdood besproken? Wordt de diagnostische waarde van de tekens onderzocht?

Vervolgens werd de *full-text* gelezen. Publicaties waarvan er geen *full-text* beschikbaar was of indien die betalend was, werden geëxcludeerd. Evenals publicaties afgeleverd in een andere taal dan het Engels werden geëxcludeerd. Er werd geen geografische restrictie opgelegd. Daarnaast werd er nagegaan of het artikel effectief een (deel)antwoord gaf op (één van) volgende vragen: Is er sprake van een techniek voor diagnose van verdrinkingsdood? Hoe goed aantonend/uitsluitend is de marker/techniek voor de verdrinkingsdood? Is er vermelding van een potentiële (nieuwe) marker voor diagnose van verdrinkingsdood? Is er vermelding van een techniek die een opkomst kent in verdrinkingsdooddiagnose? Dit zijn de inclusiecriteria

die voor deze paper gehanteerd werden om de relevantie van een publicatie te beoordelen. Artikels met als onderwerp *near-drowning* werden geëxcludeerd. De focus is immers *true drowning*.

Het doel van deze paper is om een kritisch overzicht te geven van huidige en experimentele technieken om de diagnose van verdrinkingsdood te stellen in relatie met hun diagnostische waarde. Om dit onderwerp niet restrictief te benaderen en verschillende onderzoeken tegenover elkaar te kunnen zetten, wordt een brede scope van publicaties beoordeeld. Zo werden verschillende studiedesigns geselecteerd, waaronder: *case reports/studies*, *comparison studies*, *comparative analyses*, *case-controlestudies*, *prospectieve/retrospectieve studies*, *preliminary studies*, *experimentele studies* (waaronder bijvoorbeeld *dierentrials*).

Reviews werden niet geselecteerd, maar de gebruikte referenties van deze reviews werden gescreend. Reviews werden wel gebruikt om begrippen uit te leggen. Ook werden reviews opgenomen indien er een waardevol experiment in uitgevoerd werd.

De referenties van gevonden publicaties werden nagekeken en indien relevant voor de scope van deze paper, alsnog toegevoegd. Wat betreft *reverse citation tracking* werden relevante geciteerde publicaties van de reeds geïnccludeerde studies ook opgenomen. Bovendien werd het boek van Van de Voorde (2) gebruikt.

Een totaal van 90 publicaties werd opgenomen in de finale paper. Dit grote aantal is vooral te wijten aan het feit dat publicaties vaak maar één diagnostische test/marker onderzochten en deze paper echter meerdere diagnostische markers samen zet.

## 4. Resultaten

### 4.1. Algemene begrippen en principes

#### 4.1.1. Het verdrinkingsproces

Het verdrinkingsproces kan worden opgedeeld in zes fasen (7).

- Fase één: moeite (*struggle*) hebben om de luchtweg te vrijwaren van waterinloop
  - Het wordt vaak niet opgemerkt dat het slachtoffer in moeilijkheden is: er is maar een subtiel verschil tussen zwemmen en het moeilijk hebben om de luchtweg vrij te houden van water.
  - Dit duurt 20-60 seconden aan het oppervlak voordat onderdompeling plaats vindt.
- Fase twee: initiële onderdompeling en ademinhouding
  - Slachtoffer houdt adem in als reactie op onderdompeling (tijd van adem inhouden varieert).
  - Indien direct in koud water: dan *cold shock response*: slachtoffer kan adem korter inhouden doordat de plotse verkoeling van de huid een *drive* (aanzet) om te ademen veroorzaakt.
  - Adem wordt ingehouden tot een bepaald breekpunt.
- Fase drie: wateraspiratie
  - Door de opstapeling van CO<sub>2</sub> wordt het ademhalingscentrum getriggerd en vindt ongewilde gasping plaats. Indien het slachtoffer zich onderwater bevindt dan zal die water aspireren. Ook relaxatie van de larynx door hypoxie draagt bij tot het aspireren van water.
  - Het inslikken van water kan een verklaring zijn voor het overgeven bij verdrinkingslachtoffers.
  - De hoeveelheid die wordt geaspireerd varieert.
- Fase vier : bewusteloosheid
  - In de loop van de tijd verslechtert de gasuitwisseling en verergert de hypoxie. Dit zal uiteindelijk leiden tot anoxie.
  - Ook is er afname van breinenergieserve en gaat het hersenmetabolisme falen met falen van breinfunctie als gevolg, met dan bijkomend bewustzijnsverlies, met uiteindelijk irreversibele neuronale celschade.
  - Convulsies zijn mogelijk.
- Fase vijf: cardiorespiratoir arrest
- Fase zes: dood

#### 4.1.2. Mechanisme zoet- en zoutwaterverdrinking

De pathofysiologie van verdrinking verschilt tussen zoet en zout water (2, 8, 9).

Zoet water is hypotoon ten opzichte van het bloed. Dit zorgt ervoor dat water uit de longen wordt aangetrokken naar het bloed, met toename van bloedvolume (hypervolemie) en verdunning van bloed (hemodilutie) als gevolg. Dit geeft dus een hypotone hypervolemie. In de longen ontstaat er *emfysema aquosum*, de zogenaamde 'droge longen'. De gevolgen zijn volumeoverbelasting, wat hartfalen geeft, en de natrium-, chloride- en calciumconcentratie in het bloed die daalt. Hartfalen kan wel congestief longoedeem geven, namelijk door stuwning van de longen dat er vochtuitsijpeling is. Ook ondergaan de rode bloedcellen hemolyse, wat resulteert in een stijging van kalium in het bloed, wat dan weer aanleiding kan geven tot een hartritmestoornis.

Zout water daarentegen is hypertoon ten opzichte van bloed. Hierdoor wordt plasma onttrokken uit de bloedbaan, naar de pulmonaire alveoli toe. Dit geeft een afname van bloedvolume (hypovolemie) en een concentratie van bloed (hemoconcentratie). Dit resulteert in een hypertone hypovolemie. In de longen ontstaat er longoedeem. De gevolgen zijn hemoconcentratie: natrium-, chloride- en calciumconcentratie in het bloed stijgen. Zout water wordt door de mens beter verdragen dan zoet water.

#### 4.1.3. Diagnostische waarde

Aangezien deze paper de diagnostische waarde bekijkt van markers, is het belangrijk dat enkele begrippen gedefinieerd worden. Dit is nodig om een goed begrip te hebben over de stukken die volgen. Diagnostische waarde wordt meestal uitgedrukt aan de hand van sensitiviteit en specificiteit.

Sensitiviteit betekent letterlijk gevoeligheid. Het is de mate waarin een test/teken in staat is om een diagnose uit te sluiten. Het is met andere woorden het percentage mensen met een ziekte (in deze paper: verdrinkingsdood) dat de bevinding heeft en dus terecht door de test wordt geïdentificeerd.

Specificiteit is de mate waarin een test/teken specifiek voor deze aandoening is. Het is de mate waarin een test/teken aantonend is voor een diagnose. Een specifiek teken is een teken dat bijna uitsluitend te zien is bij die ene diagnose, en dus bijna niet in andere ziektes wordt gezien. Het is met andere woorden het percentage mensen zonder de ziekte, dat de bevinding niet heeft en waar de test dus terecht negatief is.

De ideale test heeft een sensitiviteit en specificiteit van 100%. Dit is echter utopie in de praktijk.

Een ander middel om diagnostische waarde te weergeven is het opstellen van een *ROC-analyse* (*Receiver Operating Characteristic analyse*). Met een ROC-analyse wordt

gekwantificeerd in welke mate een diagnostische test een onderscheid kan maken tussen twee statussen (meestal ziek en niet-ziek). Deze ROC-analyse heeft als doel de meest passende cut-off waarde (afkapwaarde) te bepalen voor de zo hoogst mogelijke sensitiviteit en specificiteit. Met behulp van AUC (*area under the curve*) berekeningen wordt de diagnostische accuraatheid van een test bepaald. Een AUC van 0.50 betekent dat de diagnostische accuraatheid niet beter is dan toeval. Een AUC van 1 is de perfecte test. Een AUC van 0.90 of meer is excellent. Een AUC tussen 0.80 en 0.90 is goed, tussen 0.70 en 0.80 is matig, en onder 0.70 is zwak (10, 11).

## 4.2. Diagnostische waarde van tekenen van verdrinking

### 4.2.1. Vocht in de sinussen

De aanwezigheid van vloeistof in de sinussen kan een indicator zijn voor de diagnose van verdrinking. In het bijzonder wordt er gesproken over water in de sfenoïdale sinus, ook wel het teken van Svechnikov (*liquor sinuum paranasalium*) genoemd. Het teken van Svechnikov wordt algemeen gebruikt voor de paranasale sinussen, maar er kan ook enkel de sfenoïdale sinus mee worden bedoeld (12).

Er bestaan twee methodes om vocht in de sfenoïdale sinus te meten: het vocht klassiek met spuit en naald onttrekken (13-18) of meting met CT-scan (19-24). Eerst wordt ingegaan op de methode met spuit en naald. Hierbij puncteert je door het dak (hypofyseale fossa) van de sfenoïdale sinus en wordt het jugum sfenoidale met beitel en hamer verwijderd en wordt vervolgens vocht geaspireerd.

#### *Klassiek met naald en spuit*

Zivković et al. (13) vond geen statisch significant verschil in de hoeveelheid vocht in de sfenoïdale sinus tussen de verdronken groep met tekenen van ontbinding ( $1.26 \pm 1.40$  ml (17/22 cases)) en de verdronken groep zonder tekenen van ontbinding ( $1.36 \pm 1.48$  ml) (23/29). Ook blijkt dat er verdronken personen zijn zonder vocht in de sfenoïdale sinus. Verder is interessant dat bij de derde groep (lichamen in ontbinding, gevonden in een indoor omgeving) 21 van de 52 cases vocht bevatten. De hoeveelheid was wel significant minder (en aanwezigheid was minder frequent) ( $0.57 \pm 0.92$  ml) dan de twee verdronken groepen. Zo werd geconcludeerd dat niet de ontbinding, maar wel de onderdompeling de hoofdoorzaak is voor de aanwezigheid van vocht in de sfenoïdale sinus. Er mag echter niet vergeten worden dat post mortem veranderingen en weefselliqueductie, vocht in de sinus kunnen veroorzaken. ROC-analyse toonde dat met een cut-off waarde van 0.55 ml een sensitiviteit van 64% en een specificiteit van 70% kon bekomen worden. Dus als een waterlijk meer dan 0.55 ml sfenoïdaal vocht bezit, dan is er 70% kans dat de persoon actief water geaspireerd heeft (maar niet noodzakelijk ook effectief verdronken is). Vrij vocht in de sfenoïdale sinus kan dus als vitale

reactie worden gezien in verdrinken cases, maar enkel indien er geen ontbinding terug te vinden is.

Een studie van Chovallur et al. (14) berekende de diagnostische waarde van aanwezigheid van vocht in de sfenoïdale sinus. Door het vocht uit de sfenoïdale sinus te aspireren doorheen het dak met spuit en naald en dan te meten en te vergelijken tussen de verdrinken groep (n=50) en de controlegroep (n=50, talrijke doodsoorzaken behalve verdrinkingsdood en ook geen ernstig hoofdtrauma of hoofd-halstumoren), werd met behulp van data-analyse de diagnostische waarde weergegeven. De sensitiviteit was 86% (7/50 cases hadden geen vocht in sinus) en de specificiteit 100%. De positieve predictieve waarde (*positive predictive value*, PPV) van de aanwezigheid van vocht in de sinus was 100% en de negatieve predictieve waarde (*negative predictive value*, NPV) was 87.7%. Deze studie spreekt over een gemiddeld volume van  $3.002 \pm 1.846$  ml en 95%-betrouwbaarheidsinterval tussen 2.427 en 3.578 ml. Ook toonde de studie dat deze test nuttig is bij lichamen in ontbinding. Bij lichamen in ontbinding werd bij 8/8 cases die niet verdrinken waren geen vocht teruggevonden, wat niet in lijn is met wat Zivković et al. (13) zegt.

De studie van Schneppe et al. (15) observeerde Svechnikov's teken in 86.3% van de verdrinken cases met een gemiddelde van 1.64 ml vocht in klassieke verdrinking. Dit getal ligt in lijn met Zivković et al. (13). In de niet-verdrinkingsgroep waar vocht werd teruggevonden, was het gemiddelde aantal 0.46 ml, wat significant minder is dan in de verdrinkingsgroep, overeenstemmend met de bevindingen van Zivković et al. (13). Ook werd de mate van ontbinding in rekening gebracht. Een verder stadium van ontbinding bracht significant hogere hoeveelheden vocht met zich mee, wat dan weer in tegenstrijd is met de bevindingen van Zivković et al. (13).

Een studie uit 2015 toonde een significant verschil aan tussen de hoeveelheid vocht in de sfenoïdale sinussen van zoutwaterverdrinking ten opzichte van niet-verdrinking. Een significant verschil werd ook gevonden tussen zoetwaterverdrinking en niet-verdrinking. Er werd geen significant verschil gevonden tussen zoet en zout water onderling. De volumes voor zoutwater-, zoetwaterverdrinking en geen verdrinking zijn respectievelijk  $2.05 \pm 1.43$  ml,  $0.81 \pm 0.81$  ml, en  $0.12 \pm 0.15$  ml (gemiddelde  $\pm$  standaarddeviatie) (16).

Een studie uit 2017 vond dan weer geen significant verschil in volume vocht in de sfenoïdale sinus bij de vergelijking tussen verdrinking en niet-verdrinking (17).

Een studie uit 2018 toonde dat in verdrinkingscases het volume van sfenoïdale vocht niet gecorreleerd is aan de tijd sinds de dood, wat suggereert dat water de sfenoïdale sinus niet binnenvloeit na de dood. Terwijl in de controlecases het sfenoïdaal volume wel vergroot in

relatie met tijd sinds dood. Dit wijst op een verschillend mechanisme voor wateraccumulatie in verdrinking versus niet-verdrinking (18).

### *Computed tomography (CT)*

Een tweede techniek om sinussen post mortem te onderzoeken is de CT-scan.

Vander Plaetsen et al. (19) voerde een *post mortem whole body CT* uit van 41 verdrinken personen en 9 personen die stierven aan mechanische asfyxie door ophanging. Tot 98% van de verdrinken personen had vocht in de maxillaire en ethmoïdale sinus, 88% had vocht in de sferoïdale sinus en 83% had vocht in de frontale sinus. Aangezien geen enkele controlecase vocht in de paranasale sinussen had, werd een significant verschil gedemonstreerd.

Van Hoyweghen et al. (20) vergeleek 14 verdrinken cases met 11 controles (waarbij de doodsoorzaak asfyxie was (zonder onderdompeling in vloeistof)). In tegenstelling tot Vander Plaetsen et al. (19) werd geen significant verschil in frequentie van aanwezigheid van vloeistof in de paranasale sinussen gevonden (93% cases versus 78% controles).

Interessant was dat een studie die badgerelateerde dood bestudeerde, significant meer cases had met vocht in maxillaire sinus in de verdrinken (88.3%) en niet-verdrinken groep (92.3%) ten opzichte van de controlegroep (50%). De aanwezigheid van vocht in de maxillaire sinus was niet significant verschillend tussen de twee types badgerelateerde dood (verdrinken en niet-verdrinken groep) (21).

De drie publicaties hierboven onderzochten enkel de aan- of afwezigheid van het teken (frequentie van voorkomen). Onderstaande studie brengt de effectieve hoeveelheid van dit vocht in rekening.

Deze studie uit 2015 onderzocht het aantal cases met vocht en ook de gemiddelde hoeveelheid vocht in de sinus. In deze studie bevatte zowel de verdrinken als de niet-verdrinken cases bijna altijd vocht. Interessanter was dat er significant meer vocht werd gevonden in de verdrinkingsgroep (22).

Om dichter bij een antwoord op de onderzoeksvraag te geraken, zijn publicaties die zich richten op de bepaling van de diagnostische waarde essentieel. Volgende twee studies op basis van CT-metingen hebben getracht de diagnostische waarde te kwantificeren (namelijk de sensitiviteit en specificiteit bepalen).

Deze studie uit 2012 streefde naar bepaling van diagnostische waarde van de aanwezigheid van vocht in de sferoïdale of maxillaire sinus: 39 verdrinkingscases werden vergeleken met 112 niet-verdrinking (waaronder, asfyxie, hartfalen, verbranding, CO-intoxicatie, hypothermie, *sudden infant death*, ischemisch hartlijden). 97% van de verdrinken cases had vocht in de



maxillaire of sferoïdale sinus. Echter, 65% van de niet-verdrinkingscases had dit ook. De berekende sensitiviteit voor de diagnose van verdrinking was 97%. De specificiteit was 35%. Dit maakt de positief predictieve waarde (PPV) 34% en de negatief predictieve waarde (NPV) 98%. Bijgevolg suggereert deze studie van Kawasumi et al. (23) dat de afwezigheid van het teken een argument kan zijn voor uitsluiting van verdrinkingsdood.

Een andere studie van Kawasumi et al. (24) uit 2013 richtte zich op de volumebepaling. Er werd een significant verschil gevonden in volume tussen de verdrongen en niet-verdrongen cases. Er werd gepoogd cut-off waarden te bepalen, maar geen enkele waarde resulteerde in een hoge specificiteit en sensitiviteit en PPV en NPV. De beste cut-off was 1.03 ml, met een sensitiviteit 68%, specificiteit 68%, PPV 53% en NPV 81%. Er zou kunnen gedacht worden dat hoe meer vocht er te zien is in de sinus, hoe zekerder de diagnose van verdrinkingsdood wordt: dit is fout. Het vervelende is dat enkele niet-verdrinkingscases meer dan 6 ml vocht vertoonden: dit was het geval bij enkele cases met volgende doodsoorzaken: hartfalen, verbranding of vergiftiging. Zelfs sinusitis kan een reden zijn voor vochtophoping in de sinussen (24).

#### 4.2.2. Milt

Volgens Haffner et al. (25) uit 1994 wordt een kleine gecontraheerde bloedarme milt teruggevonden bij drenkelingen. Zijn retrospectieve vergelijkende studie van 42 verdrinkingscases en 42 cases van asfyxie (ophanging, ligature strangulatie en manuele strangulatie) toont een significant kleinere milt, lager milt-lichaamsgewicht ratio en lager milt-levergewichtsratio bij drenkelingen. Het gemiddelde verschil in gewicht was 18%, met dus de kleine milten bij de drenkelingen. Dit kan mogelijks worden toegeschreven aan een adrenaline effect/stressreactie met dus een 'contractie' van de milt (veroorzaakt door hypoxie, bloeddrukdaling, huidafkoeling en alcohol in bloed indien aanwezig).

Een studie uit 2010 vergeleek drie groepen: verdrinkings- (94 cases), mechanische asfyxie- (47 cases), en acute cardiale (42 cases) dood. Deze studie toont dat het gewicht van de milt significant lager is bij de verdrongen groep, in vergelijking met de cardiale doodsoorzakengroep. Er kon geen significant verschil met de asfyxie-groep worden aangetoond (26).

Hoewel Van de Voorde (2) beschrijft dat een kleine anemische milt een teken van verdrinking is, beweert deze studie van Hadley en Fowler (27) uit 2003 dat er geen bewijs is dat een kleine milt een direct gevolg is van dood door verdrinking. Zij schrijven het eerder toe aan een post mortem fenomeen: namelijk de shift van vocht uit de milt in de periode tussen de dood en vondst van het lichaam. De hypothese dat een kleine milt geen direct gevolg is van verdrinking,

wordt ondersteund doordat er geen significant verschil werd gevonden in miltgewicht tussen de asfyxiegroep en verdrinkingsgroep .

Gewicht van de milt is niet specifiek voor verdrinking. Zo toont een data-analyse van een studie uit 2019 die vier groepen vergelijkt, geen statisch significant verschil tussen verdrinking en ophanging. Er is wel een significant hoger gewicht bij opioïde overdosis of multidrugoverdosis in vergelijking met verdrinking (28).

Een andere studie uit 2006 toonde wel een significant verschil in gewicht van de milt bij verdrinking ten opzichte van asfyxie en acuut myocard infarct (AMI). Dit was opmerkelijk enkel significant bij de mannen, en niet bij de vrouwen (29).

Net zoals bij de sinussen een tweede techniek voor onderzoek de CT-scan is, kent de PMCT ook een plaats in onderzoek van de milt post mortem, namelijk bij densiteitsbepaling.

De studie van Vander Plaetsen et al. (19) uit 2015 mat de densiteit van de milt met behulp van *whole body* post mortem CT. Een significant lagere densiteit werd gevonden in de zoetwaterdrenkelingen ten opzichte van asfyxie-cases. Dit is mogelijks een marker voor hemodilutie.

Een recente studie uit 2019 demonstreerde ook dat de miltdensiteit lager was in geval van verdrinking in vergelijking met asfyxie, maar zonder dat een statistisch significant verschil kon gevonden worden (30).

#### 4.2.3. Luchtwegen

De luchtwegen ondergaan veranderingen bij verdrinking. Deze paper gaat in op een selectie van tekens die werd gevonden tijdens de literatuurzoektocht. Volgende tekenen worden hieronder besproken: externe en interne schuimprop, emfysema aquosum (hyperinflatie, droge longen, overlap van de mediale boorden), Paltaufse vlekken op het longvlies (=hemolytische pleurabloedingen), overlap van de longranden, pleurale effusie (=pleuravochtuitstorting) longgewicht, ratio van longgewicht ten opzichte van milt of lichaam of hartgewicht, GGO (*ground glass opacities*, matglasverdichtingen) en longconsolidaties. Deze opsomming is niet exhaustief, maar is gebaseerd op de tekenen waarover er recente literatuur te vinden was die focust op diagnostische waarde. Ook wordt het gebruik van de CT uitgelicht en zijn nut in de bepaling van longvolume en longveranderingen.

Allereerst is het belangrijk te vermelden dat de luchtwegen een rol spelen in veel pathologieën. Zo is de differentiaal diagnose van longemfyseem onder andere: COPD, chronisch astma, mucoviscidose, exogene respiratoir falen (verstikking met zacht object), aspiratie (bijvoorbeeld bloed)), of cardiopulmonaire resuscitatie (CPR) (9). De schuimzwam, die ontstaat door vermenging van water met eiwitrijke slijmuitscheidingen in de luchtwegen, kent ook een relatief

brede differentiaal diagnose. Dit kan ook gezien worden bij acuut longoedeem, heroïnedood, asfyxie, insulinedood (hypoglycemisch coma), gesprongen cerebraal aneurysma en fatale epilepsie (2).

Volgende studies gaan in op frequentie van tekenen in de luchtweg in het kader van de verdrinkingsdood.

Een eerste studie uit 2021 van Schneppe et al. (15) analyseerde de frequentie van schuim bij berging van het lichaam, schuim bij autopsie en emfysema aquosum bij 331 cases van dood in water. Cases werden gegroepeerd in klassieke verdrinking, atypische verdrinking (namelijk een verkort verdrinkingsproces) of geen verdrinking.

Een fungiforme externe schuimprop direct bij vondst van het lijk werd teruggevonden in 35.6% van de cases (retrospectief op basis van documentatie). De frequentie van schuimaanwezigheid was het hoogst in trachea (24.4%), en het laagst in de bronchi (3%). Dit teken werd maar in 4% van de gevallen teruggevonden op moment van autopsie. 22.7% cases hadden wel residuen rond neus en mond. Schuim in de luchtwegen bij autopsie werd genoteerd met een frequentie van 73.3% van de verdrinkingscases. Verder speelde reanimatie een rol, namelijk minder schuim aanwezig na reanimatie (41.2% met reanimatie versus 19.3% zonder reanimatie). Ook had de ligtijd in water invloed op de aanwezigheid van schuim: hoe langer het lijk in het water lag, hoe minder frequent schuim werd gedetecteerd tijdens autopsie (significant:  $p < 0.001$ ). Na 24 uur was er geen enkele case meer met een externe schuimprop. Bovendien geldt de regel: hoe meer tijd er zat tussen vondst van het lichaam en autopsie, hoe minder schuim extern zichtbaar en hoe meer cases zonder enig spoor van schuim. Interessant is dat de externe schuimprop exclusief terug te vinden was bij verdronken cases. Geen enkele niet-verdronken case toonde een schuimprop in deze studie. Schuim in de luchtwegen werd wel gezien bij sommige niet-verdronken cases (15).

Dezelfde studie toont een frequentie van 94.9% van emfysema aquosum in de verdrinkingsgroep. Dit teken was echter ook te zien in 28.6% van de niet-verdrinkingsgroep. Verder toonde emfysema aquosum een beïnvloedbaarheid door externe factoren. Het werd namelijk minder gezien bij reanimatiepogingen en eveneens minder indien het lijk langer in water lag of er ontbinding was opgetreden (15).

Ten slotte werden Paltaufse vlekken gevonden in 10.6% van de verdrinkingslijken en niet bij de niet-verdrinkinglijken (15).

Een experimentele studie uit 2019 ging na of schuim (extern en intern) een resultaat is van verdrinking of van post mortem onderdompeling. Hiervoor werden 3 groepen van elk 20 biggetjes gevormd: post mortem zoutwateronderdompeling, post mortem

zoetwateronderdompeling en *dry-land* controles. Na post mortem onderdompeling werd geen externe schuimprop teruggevonden, dus de aanwezigheid van een externe schuimprop in lichamen die uit het water zijn gehaald, lijkt een resultaat van verdrinking zelf te zijn. De interne schuimprop is niet specifiek voor verdrinking, want werd ook gezien na post mortem onderdompeling (namelijk in 35-40%), en is dus niet behulpzaam in de differentiatie van ante mortem versus post mortem onderdompeling (31).

Zoals de meerdere differentiaaldiagnoses hierboven reeds suggereren zijn bevindingen op de longen niet altijd specifiek voor een verdrinkingsdood. Deze studie uit 2018 ging na of er onderscheidbare tekenen bestaan tussen verdrinking en *sudden unexpected death in epilepsy* (SUDEP). Dit scenario vindt vaak plaats in bad. Deze twee diagnoses zijn moeilijk en gebeuren nu vooral door exclusie. Dit moet wel aangezien er aspecifieke autopsietekenen aanwezig zijn. De studie vond geen kenmerk dat een duidelijk onderscheid kon maken tussen SUDEP en epilepsie-gerelateerde verdrinking, wanneer er geen verdrinkingsgerelateerde tekenen aanwezig waren. De verdrinkingsgerelateerde tekenen in deze studie omvatten: vocht in sferoïdale sinus, schuim in de luchtwegen, helder vocht in de maag en longhyperinflatie. Deze tekenen ontbraken in 41.7% (15/36) van de zekere verdrinking groep, 54.5% (6/11) van de mogelijke verdrinkingsgroep en 95.7% (88/92) van de SUDEP-groep. Indien er wel verdrinkingsgerelateerde tekenen waren, was er wel een significant verschil tussen verdrinking (en mogelijke verdrinking) en de SUDEP-groep. Kortom, als er geen verdrinkingsgerelateerde tekenen zijn kan er moeilijk een verschil gemaakt worden tussen verdrinking en SUDEP (32).

Een oudere studie van Lunetta et al. (33) uit 2002 toont wederom aan dat externe schuimprop vaak niet wordt teruggevonden in verdrongen cases (in 275 van de 1590 (17.3%) cases). Aangezien 3 *dry land* controles ook dit teken vertonen is het geen absoluut specifiek teken voor verdrinking, maar wel vrij aantoonend.

Schuimig vocht in de luchtwegen werd in 46.5% van de cases gevonden, tegenover in 20% van de controles. Overlapping van de anterieure randen van de longen werd gevonden in 42.1% van de cases en in 1.2% (n=3) van de controles (33).

De combinatie van externe schuimprop met overlap van de longranden is wel exclusief te zien bij verdrinking, maar dit was slechts in 11.1% van de cases waarneembaar. Bijgevolg is deze combinatie dus behulpzaam bij aantoning van verdrinkingsdood, maar waardeloos in uitsluiting ervan (33).

Dezelfde studie van Lunetta et al. (33) vergeleek het longgewicht van verdrinkingslijken (met getuigen, dus zekere diagnose) met controlegroep op *dry land*. Het gemiddelde longgewicht was significant hoger in verdrongen lijken in vergelijking met *dry land* controles. Het was ook

hoger bij zoutwaterverdrinking en ook hoger bij verse lijken, in vergelijking met lichamen die al ontbindingsveranderingen hadden doorgemaakt.

Verder was het longgewicht van 14.7% (28/184) minder dan 1000 gram (droge longen): 23 van deze 28 cases hadden emfyseemlongen met overlappende randen en de overige 5 hadden normale longen. Er werd geen significant verschil in frequentie van droge longen in zoet en zout water geobserveerd (33).

Samengevat, longgewicht werd door Lunetta et al. (33) benoemd als weinig meerwaarde voor diagnose door de overlap met *dry land* controles en doordat er normale longen en droge longen (met dus een gewicht lager dan 1 kilogram) werden teruggevonden in geverifieerde verdronken lichamen.

#### *Ratio: 'drowning index', longgewicht/lichaamsgewicht en longgewicht/hartgewicht*

Bepaling van long- en miltgewicht werd reeds behandeld in deze paper. Nu wordt er in de literatuur gesproken over een '*drowning index (DI)*', namelijk de ratio van longgewicht plus pleurale effusie ten opzichte van miltgewicht.

Een studie uit 2006 toonde aan dat de DI significant verschilde tussen verdrinkingsdoodcases en asfyxielcases, en ook tussen verdrinkingscases en cardiale doodcases: dit voor zowel mannen als vrouwen. In geval van verdrinking zagen ze een grotere DI, aangezien het gewicht van longen en pleurale effusie toenam en het gewicht van de milt lager werd. Het artikel suggereert dat het gebruik van de index, en bijgevolg de combinatie van deze twee parameters, de verdrinkingsdood accurater zou kunnen vast stellen dan één van deze parameters alleen (29).

Een studie uit 2010 demonstreerde ook dat DI significant groter is in verdrinking ten opzichte van mechanische asfyxie en acute cardiale dood. De studie probeerde een cut-off waarde voor de DI te berekenen met behulp van een ROC-curve. Een DI van 14.1 werd voorgesteld als cut-off waarde voor diagnose van verdrinkingsdood (met als voorwaarde: maximum 2 weken post mortem). De sensitiviteit is 66.0% en de specificiteit is 77.5% om te differentiëren tussen verdrinking, asfyxie en acute cardiale dood (26).

Een studie uit 2014 werkte hier op verder en testte in hoeverre het gebruik van 14.1 als DI een diagnostische meerwaarde had. De sensitiviteit van de test toegepast op cases was minder dan 10% en de specificiteit was 60-70%. Er werd geconcludeerd dat DI noch specifiek noch sensitief is en dus weinig nut heeft in diagnose van verdrinkingsdood (34).

Een recentere studie uit 2019 vergeleek de DI in verdrinking met opioïde of multidrugintoxicatie of ophanging. Hoewel de gemiddelde DI wel hoger was in verdrinkingscases, is er geen DI waarde waarbij een dood met zekerheid verdrinking is. De hoogste DI waarde was namelijk

33 en die behoorde tot een multdrugintoxicatie-case. Ter conclusie, DI heeft geen tot weinig nut in onderscheid maken tussen verdrinking en druggerelateerde sterfgevallen (28).

Een studie uit 2018 berekende de diagnostische accuraatheid voor twee andere ratio's: longgewicht ten opzichte van hartgewicht (*LH: lung-heart ratio*) en longgewicht ten opzichte van lichaamsgewicht (*LB: lung-body ratio*). 50 verdrinkingscases werden vergeleken met 50 non-immersie doden. LH en LB waren beide significant hoger bij verdrinking. De diagnostische accuraatheid werd beoordeeld aan de hand van AUCs op ROC-curves. Deze was echter zwak tot matig. Voor LH werd een AUC van 0.79 (BI: 0.70–0.88) bekomen, voor LB 0.68 (BI: 0.57–0.78) en voor longgewicht op zich 0.58 (BI: 0.47–0.70). Als 0.50 in het betrouwbaarheidsinterval (BI) ligt dan is toeval even goed om te differentiëren tussen wel of niet verdrinking, met andere woorden: dan is de marker van weinig waarde in de diagnosestelling (10).

#### *Computed tomography (CT)*

Een recente studie uit 2021 met beperkte steekproefgrootte (18 cases) voerde een post mortem CT uit van de borstkas. Met behulp van een 3D-programma werd het longvolume en maximumvolume en de verhouding van de twee (longvolumeratio) berekend. Dit toonde dat longvolume wel groter, maar niet significant groter was in verdrinkingsgroep versus plotse cardiale dood door coronair arterieel lijden. De longvolumeratio was wel significant groter in de verdronken groep (35).

Vander Plaetsen et al. (19) gebruikte zoals reeds voorheen vermeld een *whole body* post mortem CT. Er werden twee longpatronen geïdentificeerd: matglasverdichtingen (*ground glass opacities*, GGO) en consolidaties. Bij matglasverdichtingen kent de long een verhoogde attenuatie (densiteitstoename), maar de randen van bronchiale en vasculaire structuren zijn nog zichtbaar. Terwijl bij longconsolidaties er een homogene verhoging van attenuatie is en bijgevolg de bronchi en bloedvaten niet meer zichtbaar zijn. Verder werd de lokalisatie beoordeeld. De veranderingen in de long verschilden significant tussen de twee groepen (verdrinking versus ophanging); namelijk waar de verdronken groep vooral diffuse verspreiding had, had de controlegroep meer hypostatische veranderingen.

Schuimig vocht in de luchtwegen werd met de CT gedetecteerd in 6 (21%) van de verdronken cases en in geen enkele controlecasse (plotse dood door atherosclerotische coronair arteriële ziekte). In deze studie van Levy et al. (36) werd GGO in 89% van de verdronken cases gezien en in 100% van de controlecasses. De hoofdrede van GGO is cardiogeen longoedeem bij plotse cardiale dood.

Een studie uit 2014 vond geen verschil in GGO van longparenchym tussen 14 verdronken cases en 11 asfyxiëcases (20).

Een zeer recente studie uit 2022 probeerde met een kwantitatieve PMCT analyse (namelijk stereologie) 14 verdrinkingscasussen van 14 opioïdoverdosiscasussen te onderscheiden in een blinde control-case studie. Statistisch faalde dit experiment. Er werd namelijk geen significant verschil gevonden tussen de twee groepen voor longgewicht, longvolume, longdensiteit, longconsolidaties, GGO, bronchi en luchtgevuuld longweefsel (37).

#### 4.2.4. Gastro-intestinaal

Volgende paragraaf behandelt de kenmerken van verdrinking in de gastro-intestinale tractus (voornamelijk de maag). De tekenen die besproken worden, zijn: het teken van Wydler, maagmucosalaesies, verdunning maaginhoud (densiteit) en vergroting maagvolume. Dit is wederom geen exhaustieve lijst van alle mogelijke gastro-intestinale verdrinkingsteken, maar is gebaseerd op de beschikbare recente literatuur die zich focust op de diagnostische waarde en de frequentie van voorkomen.

Wydler's teken verwijst naar de drie lagen van maaginhoud: schuim bovenaan, vloeistof in het midden en een vast deel op de bodem (12).

In de sectie algemene begrippen werd reeds vermeld dat braken tijdens het verdrinkingsproces mogelijk is. Indien dit braken heftig is, kan dit leiden tot scheuren van de slokdarm (syndroom van Boerhaave), lineaire mucosale scheuren ter hoogte van de cardio-oesofagale junctie (syndroom van Mallory-Weiss) of in andere delen van de maag. Deze studie van Blanco Pampín et al. (38) schrijft de maaglaesies toe aan het kokhalzen en braken tijdens het verdrinken. Bijgevolg lijkt de aanwezigheid ervan de kans op vitale verdrinking te verhogen. Maagmucosalaesies werden in deze studie in 11 van de 52 gevallen (21.1%) gezien.

Deze studie uit 2021 van Schneppe et al. (15) toonde Wydler's teken aan bij 15.6% van de verdrinkingsdoden. Geen enkele niet-verdronken persoon had dit teken, wat de aantonende kracht versterkt. 15.6% is een lage frequentie. Hetzelfde geldt ook voor maagmucosalaesies: die maar bij 5.4% van de verdronken personen aanwezig waren, en bij geen enkele niet-verdronken persoon. De verdunning van intestinale inhoud werd vaker gezien (49.7% van verdronken cases), maar dit werd ook bij 5.9% van de niet-verdronken cases gezien. Handig aan deze gastro-intestinale bevindingen is dat ze niet beïnvloed worden door lange ligtijd het in water en door ontbinding, en dus relatief constant zijn, wat deze interessant maken in casussen met een lang post mortem interval.

#### *PMCT*

In deze vergelijkende studie uit 2019 werd onderzocht wat de accuraatheid was van PMCT ten opzichte van autopsie in het bepalen van het aantal lagen maaginhoud. Een sensitiviteit van 52% en een specificiteit van 46.6% demonstreerde dat PMCT niet altijd even betrouwbaar is in vergelijking met het resultaat op klassieke autopsie. Interessanter was dat de drielaagige

maaginhoud, het zogenaamde Wylder's teken, maar in 13% van autopsie en 18% van PMCT werd teruggevonden. Het maakt het teken dus eerder zeldzaam. In de controlegroep van 35 niet-verdronken cases was het teken in geen enkele case aanwezig. Indien het teken dus aanwezig is, is het een teken dat wijst naar verdrinkingsdood. (Dit werd enkel onderzocht in zoetwatercases) (39).

Vander Plaetsen et al. (19) besprak ook de meerdere lagen van maaginhoud (lucht, schuim, vloeistof, debris) op PMCT. Daar werd het teruggevonden in 27% van hun verdronken cases. Het maagvolume was ook significant groter in de verdrinkingslachtoffers door ingestie. De dichtheid van maaginhoud bij verdrinking was lager door de bijmenging van water.

In de studie van Van Hoyweghen et al. (20) uit 2015 werd daarentegen geen significant verschil gevonden in maaginhoudendichtheid tussen verdrinking en asfyxie, wegens grote overlap tussen cases en controles. De hypothese dat maaginhoud die wordt gemixt met lage dichtheidsvloeistof (zoals water door verdrinking) een dichtheidsdaling teweeg zou brengen, kon dus niet aangetoond worden.

Deze studie uit 2018 die werd gevoerd bij badgerelateerde oorzaken, illustreerde ook dat de maaginhoudendichtheid significant lager was in verdrinkingscases in vergelijking met niet-verdronken badgerelateerde dood en de controlegroep. De maaginhoud was ook significant hoger bij de verdronken groep (21).

#### 4.2.5. Skeletbloedingen

Weinig recente studies hebben onderzocht wat de effectieve waarde is van bloeding in de rotsbeenderen, processus mastoideus, os temporalis (tympanomastoïde ruimte) bij de diagnosestelling van de verdrinkingsdood.

Eén van de weinige bestaande studies hypothetiseerde dat *blood-stained mastoid processes* (bebloede processus mastoidei) zouden te wijten zijn aan drukveranderingen tijdens het verdrinkingsproces. Het werd maar gezien in 5.4% van de verdronken personen. Het werd niet gezien in de niet-verdronken groep (15).

Een oude case report uit 1982 ondersteunt de zeldzaamheid van dit teken. De auteurs beweerden dat tympanomastoid hemorrhagie in afwezigheid van otitis media, hoofdtrauma, CVA of bloedingsdiathese, sterk ondersteunend bewijs is voor verdrinking. Namelijk, in de 258 autopsies van allerlei doodsoorzaken werd slechts in 11 cases bloed in de tympanomastoid ruimte teruggevonden (waarvan 10 door schedelfractuur, CVA en leukemie, en 1 dus door verdrinking) (40).



#### 4.2.6. Spierbloedingen

Skeletspierbloeding in het kader van verdrinking omvat intramusculaire bloeding van de ademhalingspijeren en van de spieren rond het schouderblad (scapula). Deze paragraaf zal zowel de frequentie van skeletspierbloeding als de reden waarom dit gebeurt toelichten.

Een eerste studie uit 2021 demonstreerde dat hemorragische ademspieren zelfs meer voorkwamen bij niet-verdrinking dan verdrinking. De studie vergeleek de prevalentie van het teken in verdrinkingscases met niet-verdrinkingscases, maar die wel waren ondergedompeld in water. Het kwam voor in slechts 14.6% van de cases van verdrinking en 50% van de niet-verdrinkingcases. Het teken kon in deze studie niet gedetecteerd worden bij gevallen in een gevorderd stadium van ontbinding (15).

Een volgende studie uit 2021 kwam uit op een hogere frequentie van dit teken in verdrinkingsdoden. In deze *preliminary* case studie met 715 cases met verschillende doodsoorzaken werden spierbloedingen gezien in vele doodsoorzaken, waaronder in verdrinking (118/185: 63.8%). Andere oorzaken voor spierbloedingen rond de scapula zijn: asfyxie, ligatuur strangulatie, manuele strangulatie, verstikking (*choking*) en traumatische asfyxie. Deze spierbloedingen werden beschouwd als een gevolg van bewuste en actieve bovenste lidmaat bewegingen tijdens alle types van asfyxie (41).

In deze epidemiologische analyse uit 2021 werd bij 46 van de 145 verdrinken personen (31.7%) een bloeding gezien in de (accessoire) respiratoire spieren van de hals en borstkas (onder andere: musculus sternocleidomastoideus, m. pectoralis major/minor, m. sternohyoid/thyroid,... ). Hier werd geconcludeerd dat het een bijkomend criterium is om fatale verdrinking te onderscheiden van andere doodsoorzaken, op voorwaarde dat er geen hematomen van huid of subcutaan vet boven de intramusculaire bloeding gezien werden en pre en post mortem traumata uitgesloten werden (42).

Nu wordt dieper ingegaan op het ontstaansmechanisme van deze spierbloeding. De hypothese dat spierbloedingen (rond de scapula: m. supraspinatus, infraspinatus, rhomboideus) gelinkt zijn aan het bewust actief excessief bewegen van het bovenste lidmaat tijdens verdrinking, wordt ondersteund door volgende studie. Daar werden spierbloedingen minder gezien in cases van zelfdoding (56%) en in natuurlijke ziekte voorafgaand aan de verdrinking (19%). Bij accidentele verdrinking was de frequentie 63.4%. Ze hypothesiseerden het volgende: het gebeurt waarschijnlijk in een wanhoopsdaad om jezelf te proberen redden (*self-rescue attempts*). Een bijkomend argument om de hypothese van actieve bewuste beweging te ondersteunen, is door de relatie die het fenomeen kent met cervicale letsels. Bij een hoog cervicaal letsel zal beweging beperkt zijn wat resulteert in minder spierbloeding rond scapula (43).

De studie van Girela-López et al. (44) uit 2016 trachtte te achterhalen wat het mechanisme was van spierbloedingen. Er werd een experiment uitgevoerd met drie groepen ratten: verdronken, exsanguinatie (doodgebloed), cervicale dislocatie. De resultaten stellen twee mechanismen voor: spierbloeding door intense anoxie (het geval bij verdrinking en exsanguinatie) of mechanisch trauma (wat enkel gezien werd bij verdrinking door dus intensieve spiercontractie en overrekking en geforceerde ademhaling en beweging om toch maar uit water te geraken) (44).

De intramusculaire bloedingen zouden een gevolg zijn van verhoogde ademhalingsinspanning tijdens het verdrinken. De epidemiologische studie uit 2021 toonde ook aan dat 65+'ers mogelijks gevoeliger zijn voor intramusculaire bloeding in fatale verdrinking door de spierzwakte als gevolg van ouderdom. Bloedingsneiging (door levercirrose of medicatie) had geen invloed op het voorkomen van intramusculaire bloedingen (42).

#### 4.2.7. Diatomeeën

Deze paper gaat niet diep in op de diatomeeëntest. Hierover bestaat reeds veel literatuur en een vergelijking van de bestaande literatuur zou een onderzoeksonderwerp op zich zijn. De paper beperkt zich tot het vermelden van enkele kritische punten.

Nieuwe technieken, naast de klassieke chemische digestie, worden geprobeerd om de diagnostische waarde van diatomeeën te verhogen, vaak echter tevergeefs. Het grote probleem is de aanwezigheid van diatomeeën bij niet-verdronken cases. Dit geeft vals-positieven. Eén van de redenen is bijvoorbeeld contaminatie tijdens het testen (45, 46).

Ook werden nieuwe technieken zoals *microwave digestion-vacuum filtration-automatic scanning electron microscopy* ingezet. Dit dan vooral om de klassieke tijdrovende en omslachtige test te proberen optimaliseren (46, 47). Een andere relatief nieuwe techniek voor diatomeeën is DNA-sequencing van specifieke genetische fragmenten (46). Een auteur spreekt zelfs van *deep learning* om de diatomeeën test te automatiseren (46). Een andere studie maakte gebruik van beenmergaspiratie van het sternum om op een snelle en simpele minimaal invasieve manier (lichaamsholten moeten niet geopend worden) diatomeeën op te sporen, in de veronderstelling dat beenmerg minder gevoelig is voor contaminatie (48). Ondanks de pogingen om de techniek te verbeteren, blijft het probleem bestaan van de vals-positieven.

#### 4.2.8. Biochemische elementen

Bij de veranderingen in biochemische parameters is het belangrijk het hierboven reeds vermelde mechanisme van zoetwaterverdrinking (hemodilutie) en zoutwaterverdrinking (hemoconcentratie) in het achterhoofd te houden.

## Strontium

Om het hoofdstuk in te luiden, wordt gestart met een indicator van zoutwaterverdrinkingsdood, genaamd strontium (Sr). In zout water is de strontiumconcentratie hoger dan in zoet water. Hieruit volgt dat er voorzichtig moet worden opgetreden om strontium als een indicator voor zoetwaterverdrinking in te zetten. Er wordt bovendien gewezen op de geografische strontiumconcentratieverschillen tussen wateren. De aanbeveling stelt voor om steeds een waterstaal af te nemen op de plaats waar het lichaam werd gevonden (49).

Een studie uit 2003 toonde aan dat als je Sr in ventriculaire bloed meet, er maar bij 32% van de zoetwatercases een correcte diagnose gesteld kon worden. Deze vaststelling bekrachtigt het feit dat strontium weinig waarde heeft in diagnose van zoetwaterverdrinking (50).

Een studie uit 2012 die meerdere biochemische markers vergeleek tussen zoet en zout water, kwam uit op statistisch significant hogere strontiumwaarden bij zoutwaterverdrinking, op alle gemeten bloedlocaties (rechterventrikel (RV), linkerventrikel (LV), perifere bloed en verschil linker- en rechterventrikel). Vervolgens werd er een ROC-analyse uitgevoerd om met cut-off waarde sensitiviteit en specificiteit te berekenen: de sensitiviteit en specificiteit was steeds hoger voor zout water dan voor zoet water. Discriminantanalyse van de concentraties van Sr in alle locaties zorgde voor juiste classificatie van 79.2% van de zoutwaterverdrinking en 96.4% van de niet-verdrinking. Voor zoet water werd voorgesteld om Sr te combineren met ijzer (Fe) aangezien dit de waarschijnlijkheid op correcte diagnose vergroot. De auteurs adviseren wel om Sr-analyse enkel te gebruiken voor lichamen die minder dan 72 uur in het water lagen, om post mortem diffusie impact te minimaliseren (51).

Pérez-Cárceles et al. (52) bevestigde de hoge negatieve predictieve waarde van strontium, namelijk bij discriminantanalyse kon 97.2% van de niet-verdronken groep correct geclassificeerd worden (slechts 2/73 verkeerd aangezien als verdronken). Een correcte classificatie van 81.5% van de verdronken cases, is in lijn met vorig aangehaald artikel. Ook werden cut-off waardes berekend die een sensitiviteit van meer dan 90% en een specificiteit van meer dan 80% konden demonstreren (52).

De recentste studie komt uit 2015 (gevonden met de zoekstrategie) en onderzocht strontiumconcentratie in LV, RV en verschil LV en RV en pleuravocht; in zoet- en zoutwaterverdrinking en controlegroep. Deze studie demonstreerde dat de LV-concentratie en pleuravochtconcentratie van Sr significant hoger was in zout- dan in zoetwaterverdrinking. LV en RV waren significant hoger in verdrinking (zoet en zout) dan in controlegroep. Voor verschil LV-RV werd enkel een statistisch significant verschil gevonden voor zout versus controle, maar niet voor zoet versus controle (53).

De concentratie van strontium in het bloed is afhankelijk van allerlei factoren. Volgende studie onderzocht de invloed van leeftijd, geslacht, koud/warm water, zoutgehalte. Geen significante effecten werden gevonden voor invloed van leeftijd en geslacht. Wel een klein significant effect van temperatuur van het watermedium (54).

#### *Biochemische elementen per lichaamsvocht*

Om enkele biochemische elementen te bespreken, is gekozen voor een opdeling per lichaamsvocht. In de praktijk worden immers meerdere parameters per lichaamsvocht bepaald.

#### *Glasvocht (vitreous humor)*

In het glasvocht van het oog kunnen onder andere volgende elektrolyten gemeten worden: natrium ( $\text{Na}^+$ ), Chloride ( $\text{Cl}^-$ ), magnesium ( $\text{Mg}^{2+}$ ).

Een prospectieve studie uit 2013 vergeleek de natrium- en chlorideconcentraties van 15 zoutwaterverdrinkingen met 7 immersiedoden niet gerelateerd aan verdrinking, maar die wel in zout water lagen (*deaths from immersion deaths not related to drowning but recovered from saltwater = DNRD*); met 50 casecontroles. Het onderzoek toonde een statistisch significante stijging in post mortem glasvocht van natrium- en chloridelevels (= PMVSC). Significante stijging van natrium en chloride elk apart werd ook beschreven in de verdrinkingsgroep, ten opzichte van zowel de controle als de DNRD-groep (55).

Een studie uit 2016 mat de PMVSC levels van oogbollen (6 in zout water en 6 droog in plastic zak) van runderen op 30 minuten, 1 uur, 6 uur en 12 uur. Er werd geen significant verschil gevonden tussen de twee groepen op 30 minuten en 1 uur. Dit wijst er op dat PMVSC-level veranderingen in het eerste uur niet veroorzaakt zijn door onderdompeling, ervan uitgaande dat in een volledige mens met oogleden hetzelfde gebeurt. Bij langere immersie (meer dan een uur) steeg de concentratie significant bij de natte groep, en dus speelt diffusie/osmose wel een rol (56).

Een andere studie uit 2016 bouwde hierop verder en ging na of stijging van PMVSC gebruikt kan worden als een diagnostische test in zoutwaterverdrinking. Weer werd een significante stijging van  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  en PMVSC genoteerd bij zoutwaterverdrinkingscases ten opzichte van controlecases. Er werden cut-off waarden berekend via ROC-analyse. Het interessantste is de cut-off van 259 mmol/l voor PMVSC: dit gaf een sensitiviteit van 79% en een specificiteit van 90% en een positieve LR van 7.6. De natrium- en chloorwaarden elk apart bereikten ook een degelijke diagnostische waarde, maar de combinatie van de beide was diagnostisch waardevoller. Echter, deze test is enkel betrouwbaar indien de onderdompelingstijd minder dan één uur is. Na één uur stijgt de PMVSC echter door onderdompeling en niet meer door

enkel verdrinking. De auteurs benadrukten dat de test dient als extra argument en dus niet om louter hier op te vertrouwen (57).

De resultaten van de studie van Tse et al. (58) uit 2017 liggen in lijn met de twee bovenstaande studies (56, 57). PMVSC stijgt met langere onderdompelingstijd. Daarbovenop stijgt de post mortem magnesiumconcentratie in glasvocht (PMVM) significant na 1 uur, wat getuigt dat de elektrolytstijging waarschijnlijk toe te schrijven is aan passieve diffusie van water doorheen het oog en dus niet aan het verdrinkingsproces zelf (58).

Bovenstaande studies onderzochten glasvocht bij zoutwaterverdrinking. Natrium-, chloride- en magnesiumconcentratie zijn daar gestegen. Echter bij zoetwaterverdrinking toonde een studie uit 2016 aan dat de natrium- en chloridelevels in glasvocht zijn gedaald ten opzichte van de niet-verdrinkingsgroep. Dit wordt wederom hoofdzakelijk toegeschreven aan post mortem diffusie tussen oog en omringend water, aangezien de daling van natriumlevels correleert met de onderdompelingstijd en er bij korte onderdompelingstijd nog geen daling in natriumlevel is. Elektrolytveranderingen in het bloed (hemodilutie) door waterinhalatie worden dus niet verantwoordelijk gesteld voor de glasvochtconcentratieveranderingen (59).

#### CSF: cerebrospinale vloeistof

In deze experimentele studie van Paulis en Hasan (60) uit 2018 werden zes groepen konijnen gebruikt: levende bij bewustzijn konijnen werden verdrongen in zoet en zout water, konijnen onder anesthesie werden verdrongen in zoet en zout water, en als controlegroep: ondergedompelde dode konijnen in zoet en in zout water. Volgende elektrolyten en biochemische parameters werden gemeten: natrium, chloor, calcium, kalium, magnesium, totaal proteïne, urinezuur, ureum, glucose, creatinine en tumor necrosis factor alfa (TNF- $\alpha$ ).

De elektrolyten (buiten kalium) waren allemaal significant gestegen in levend verdrongen konijnen in zout water ten opzichte hun controlegroep. Alle elektrolyten van konijnen verdrongen in zoet water waren significant gedaald. De elektrolyten en biochemische markers van bewusteloze konijnen verschilden niet significant van de ondergedompelde dode groep.

Bovendien waren ureum, creatinine, urinezuur, glucose en TNF anders in zoet- en zoutwaterverdrinking ten opzichte van hun controlegroep. Urinezuur, ureum en creatinine was lager in zoet water en hoger in zout water verdrinking. Totale proteïne was lager in zoetwater- en hoger in zoutwaterverdrinking. TNF was lager in zoet water en hoger in zout water (60).

Hierboven werd reeds glasvocht besproken. Het probleem van glasvocht is het mogelijke effect van lange onderdompeling. Vandaar dat deze studie van Garland et al. (61) CSF als alternatief voorstelt: het ligt namelijk meer anatomisch afgeschermd dan het glasvocht in de ogen en is dus mogelijks niet zo gevoelig aan de effecten van passieve diffusie tijdens onderdompeling.

De studie van Garland et al. (61) uit 2019 mat post mortem  $\text{Na}^+$  en  $\text{Cl}^-$  in CSF (PMCS\_C) van de cerebrale ventrikels (PMCS\_C\_V) en ter hoogte van de subarachnoïdale ruimte in de ruggenmergkanaal via lumbale punctie (PMCS\_C\_L); in twee groepen (13 zoutwaterverdrinkingen en 31 controledoden die niet waren ondergedompeld). De staalname werd gebaseerd op de studie van Garland et al. (62) die vond dat stalen uit de subarachnoïdale ruimte en cerebrale ventrikels post mortem biochemisch verschilden.

Zowel voor PMCS\_C\_V en \_L werd een significante verhoging in zoutwaterverdrinkingen getoond. De AUC van PMCS\_C\_V was 0.73 en AUC van PMCS\_C\_L was 0.83. Ook werden cut-off waarden berekend met ROC-analyse. The optimale cut-off waarde voor PMCS\_C\_V was 216 mmol/L (sensitiviteit 60%; specificiteit 72%; likelihood ratio 1.80; PPV 45%) en was voor PMCS\_C\_L 241 mmol/L (sensitiviteit 78%; specificiteit 73%; likelihood ratio 2.89; PPV 46%). Hoewel de AUC lager is dan die van de glasvochtstudies, argumenteerden de auteurs dat CSF minder gevoelig is aan het onderdompelingseffect en dus wel degelijk te verkieszen is boven glasvocht (61).

### Pleuravocht

Aangezien de aanwezigheid van pleurale effusie (=pleuravochttuitstorting) niet voldoende is voor de diagnose van verdrinkingsdood, is het bepalen van elektrolyten in dit pleuravocht mogelijks meerzeggend. Pleuravocht is niet enkel gerelateerd aan verdrinking, maar ook aan: hart- of longziekte reeds aanwezig voor dood, ernstig longoedeem ontwikkeld in de agonale periode (stervende fase, snakken naar adem (*gasp*ing)), strijden om in leven te blijven/tijdens doodstrijd) onafhankelijk van de doodsoorzaak en vochtproductie door post mortem veranderingen (63).

Deze studie uit 2012 van Matoba et al. (63) ging na of de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  -concentratie in pleurale effusie waardevol is voor diagnose. Het onderzoek trok volgende conclusies: als de concentratie van  $\text{Na}^+$  of  $\text{Cl}^-$  onder 65 mEq/l is, dan kan een diagnose van zoetwaterverdrinking gemaakt worden. Als de natriumconcentratie hoger is dan 175 mEq/l of  $\text{Cl}^-$  hoger dan 155 mEq/l of  $\text{Ca}^{2+}$  hoger dan 16 mg/dl of  $\text{Mg}^{2+}$  hoger dan 15 mg/dl, dan kan een diagnose van zoutwaterverdrinking gemaakt worden. De diagnostische waarde werd echter niet onderzocht.

Een volgende studie uit 2013 maakte gebruik van een gemodificeerde diagnostische indicator: de som van natrium-, kalium- en chloorconcentratie in pleuravocht ( $\text{SUM}_{\text{Na+K+Cl}}$ ). Er werden cut-off waarden bepaald door middel van ROC-analyses. Een SUM minder dan 195.9 mEq/l is sterk suggestief voor zoetwateraspiratie (dilutie-range) en een SUM boven 282.7 mEq/l is sterk suggestief voor zoutwateraspiratie (concentratie-range). Met deze cut-off waarden konden 15/21 (71.1%) zoetwatercases en 29/32 (90.6%) zoutwatercases juist gediagnosticeerd worden (64).

De studie van 2022 bepaalde de som van natrium en kalium en de som van  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  en  $\text{Cl}^-$ , op basis van de meting van  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  en  $\text{Cl}^-$ , in drie groepen: 44 zout, 60 zoet, 30 niet-verdrinking met pleurale effusie als controle. De controlegroep is hier goed gekozen, aangezien door ontbinding/lang post mortem interval (PMI) ook pleurale effusie kan ontstaan. Een onderscheid in samenstelling van pleuravocht zou van meerwaarde kunnen zijn om een onderscheid te maken tussen effectieve verdrinking en gevolg van ontbinding. De studie vond significante verschillen tussen de drie ionenconcentraties en twee sommen. Een ROC-analyse toonde een sensitiviteit en specificiteit van 100% voor de  $\text{SUM}_{\text{Na}+\text{K}+\text{Cl}}$  bij de cut-off van 288.3 mEq/l voor differentiatie tussen zout en controlegroep. Voor de differentiatie tussen zoet water en controlegroep behaalde de  $\text{SUM}_{\text{Na}+\text{K}}$  met cut-off 123.2 mEq/l een sensitiviteit van 0.967 en specificiteit van 1.000. Ook interessant was dat een natriumconcentratie cut-off van 109.0 meq/l een sensitiviteit van 0.977 en een specificiteit van 0.933 haalde om te differentiëren tussen zout en controlegroep. Kortom, deze studie toont het nut van elektrolytenanalyse in pleuravocht aan bij diagnose van verdrinking en dit zelfs in ontbonden lichamen met lang PMI (65).

## Bloed

De normale range van natriumserumconcentratie is 136.7-145.1 mmol/L. Een studie uit 2006 mat het natriumlevel in de linkerventrikels. Het gemiddelde natriumlevel in de zoetwaterverdrinkingen (117 mmol/L) was significant minder dan normaalwaarde van serumnatrium. Bovendien was het gemiddelde natriumlevel in zoutwaterverdrinkingen (153 mmol/L) significant hoger dan het gemiddeld serum. Aangezien er wel overlap was tussen zoet en zout wordt deze marker niet voorgesteld als een diagnostische test. Het kan echter wel als ondersteunend argument gebruikt worden. Ook is de reductie die gezien werd in zoetwaterverdrinking een argument voor hemodilutie (66).

Volgende studie uit 2012 ging de biochemische markers (serum strontium (Sr), magnesium ( $\text{Mg}^{2+}$ ), natrium ( $\text{Na}^+$ ), chloride ( $\text{Cl}^-$ ), calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ), ijzer (Fe), ureum, creatinine (Cr) en cardiaal Troponine T (cTn-T)), na in: LV, RV, perifeer en verschil LV-RV. De waarden werden vergeleken tussen drie groepen: zoet-, zoutwaterverdrinking en een controlegroep. Ook werd een ROC-analyse uitgevoerd: in hoeverre is de marker met *cut-off point* in staat een case correct te classificeren als zoet/zoutwaterverdrinking of niet-verdrinking? Daaruit volgde, zoals reeds vermeld, dat voor zoutwaterverdrinking de markers Sr het nuttigste bleek (met hoogste specificiteit van 97.5% en sensitiviteit van 85.4% in LV bepaling).  $\text{Mg}^{2+}$  en  $\text{Cl}^-$  kende ook enige meerwaarde ( $\text{AUC} > 0.70$ ). De overige markers toonden weinig significantie en er werd ook geconcludeerd dat voornamelijk Sr, Fe,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$  een rol kunnen spelen, terwijl de overige van weinig waarde zijn. Verder werd de relatie met biochemische elementen in bloed en PMI onderzocht. Er werd enkel een significante correlatie gevonden met waterlichtijd (en niet met

PMI). Toch suggereerden ze om biochemie enkel te gebruiken in de periode vroeg na de dood, wegens het risico op interferentie door post mortem diffusie van de elementen (51).

Bromide is een ander element dat gedetecteerd kan worden in bloed. Bromide werd in deze studie uit 2010 enkel bij zoutwater- teruggevonden en niet bij zoetwaterverdrinking. De sensitiviteit was laag (40%), aangezien er in 6/10 zoutwatercases geen bromide werd gevonden (67).

#### Vocht in de sfenoïdale sinus

Hierboven vermeldde deze paper al de mogelijke aanwezigheid van vocht in de sfenoïdale sinus. Hierin kunnen ook biochemische elementen bepaald worden. Dit onderzoek uit 2015 deed dit met *energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDX)*. Interessant was dat chloride en bromide enkel gedetecteerd konden worden in zout water en in geen enkele van de zoetwatercases. In de niet-verdronken groep kon chloride in 1/11 cases bepaald worden en bromide in 5/11 cases. Kortom, bromide- en chloridebepaling in sinusvocht kan ondersteunend zijn voor diagnose van zoutwaterverdrinking, maar is dus niet waterdicht voor differentiatie tussen verdrinking of geen verdrinking (16).

De volgende studie mat  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  en totaal proteïne ook in het vocht van de sfenoïdale sinus. Door middel van classificatie van de waarden kwam deze studie er op uit dat een  $\text{Na}^+ \leq 90$  mEq/L en  $\text{Cl}^- \leq 70$  mEq/L wijzen op zoet water &  $\text{Na}^+ \geq 150$  mEq/L,  $\text{Cl}^- \geq 120$  mEq/L, en  $\text{Mg}^{2+} \geq 20$  mg/dL wijzen op zoutwaterverdrinking. Met deze opdeling werden de cases ingedeeld zonder overlap. De auteurs wijzen er wel op dat dit moet gebruikt worden in combinatie met andere tekenen van verdrinking en doodsoorzaken moeten worden uitgesloten (17).

Een volgende studie uit 2018 bepaalde referentiewaarden voor niet-verdronken cases, namelijk:  $96 \leq \text{Na}^+ < 152$  &  $139 \leq \text{SUM}_{\text{Na+K}} < 179$  &  $243 \leq \text{SUM}_{\text{Na+K+Cl}} < 311$  (mEq/L). Indien een slachtoffer zijn waarden buiten deze referenties vallen, is dit een teken dat wijst op verdrinking. In tegenstelling tot de studie van Torimitsu et al. (65) in pleuravocht waar  $\text{SUM}_{\text{Na+K+Cl}}$  het meest waardevol was in differentiatie tussen zoet, zout en controlegroep, is in sfenoïdaal vocht  $\text{SUM}_{\text{Na+K+Cl}}$  inferieur aan natrium en  $\text{SUM}_{\text{Na+K}}$  (64).

#### Longweefsel

Een preliminary studie uit 2021 onderzocht 11 sporelementen in longweefsel in het kader van diagnose van zoutwaterverdrinking. Een *inductively coupled plasma-mass spectrometry* en *principal component analyse (PCA)* werden hiervoor gebruikt. De resultaten tonen significant hogere concentraties van broom (Br) en strontium (Sr) in de zoutwatercases in vergelijking met andere doodsoorzaken. Zink-, lood-, koper-, cadmium- en seleniumconcentraties waren significant lager in zoutwatercases in vergelijking met andere doodsoorzaken. De studie



toonde de beste differentiërende capaciteit (tussen zoutwaterverdrinking en andere doodsoorzaken) voor Sr en Br (68).

### *Ijzer*

Het hoofdstuk biochemische elementen wordt afgesloten met de bespreken van ijzer (Fe).

Volgens deze studie uit 2012 is de ijzerconcentratie (in LV, RV, perifeer, verschil LV-RV) niet significant verschillend tussen de verdrinkingsgroep en de groep met andere doodsoorzaken. Ook werd geen significant verschil gevonden tussen zoet- en zoutwaterverdrinking. Wat wel interessant is, is dat het ijzerverschil tussen LV en RV, 66% van de zoetwaterverdrinkingscases correct kon classificeren (51).

Een oude studie uit 2006 zegt dat het RV-LV-verschil van ijzer significant hoger is bij de zoetwaterverdrongen groep in vergelijking met de niet-verdrongen groep. Er was ook geen overlap van waarden tussen de twee groepen. Dit was in casussen met hemodilutie. Deze ijzertest mag niet worden gebruikt bij lange post mortem intervallen en vergevorderde ontbinding, want dan is er vaak onvoldoende bloed in het hart of zijn er post mortem klonters. Ook speelt de post mortem diffusie een rol bij lang post mortem interval (69).

#### 4.2.9. Hemolytische aorta ( $\pm$ truncus pulmonalis) verkleuring

Een teken van hemolyse is rode verkleuring van de intima van bloedvaten (in het bijzonder de slagaders) (2). Experimenteel bewijs in literatuur is karig; het is meer beschreven in observationele studies.

Het mechanisme achter deze hemolytische verkleuring van de intima van de aorta werd onderzocht in een studie uit 2006. Er werd door middel van een dierenmodel aangetoond dat in zoetwaterverdrinking (niet in zoutwaterverdrinking) een significante daling van de natriëmie in het linkerventrikel gezien kan worden; dit weerspiegelt hemodilutie. Verder werd aangetoond dat gehemolyseerd bloed in staat is om de aortawortel (maar niet de truncus pulmonalis) te verkleuren (66).

Een retrospectieve studie uit 2008 van 120 zoetwaterverdrinkingen vond de hemolytische intima verkleuring van de aortawortel in 6 cases terug (5%). Het teken werd niet teruggevonden in de 120 controles. Het teken is dus zeldzaam, maar indien aanwezig kan het een mogelijks nuttig en bevestigend teken zijn voor zoetwaterverdrinking. De auteurs suggereerden dat de aanwezigheid van dit teken in cases zonder ontbinding, de waarschijnlijkheid op zoetwaterverdrinkingsdood verhogen. (De studie sloot alle ontbindingscases uit) (70).

Een prospectieve studie uit 2013 vond een rode hemolytische aortaverkleuring (maar geen truncus pulmonalisverkleuring) terug in 21 van de 29 cases (72%). Dit is opvallend meer dan Tsokos et al. (70). Zelf wijten ze deze discrepantie aan het verschil in studiedesign en

beklemtone dat dit teken van zoetwaterverdrinking vaak niet herkend en beschreven wordt. Ook werd beschreven dat de oorzaak van deze verkleuring de hemolyse van rode bloedcellen is door aspiratie van water (13).

Een studie uit 2021 toont de aanwezigheid van intimale aortakleuring aan bij 11.5% van de verdrinken groep. In ongeveer 6% van de niet-verdrinken cases werd dit teken ook geobserveerd. Kortom, het teken is zeldzaam in verdrinking, maar ook bestaand in niet-verdrinking (15).

Een oude studie uit 2006, maar één van de weinige die specificiteit en sensitiviteit naging, vergeleek de aanwezigheid van dit teken tussen verdrinking en verschillende doodsoorzaken. De studie observeerde hemolytische verkleuring van de intima van de aortawortel in 1/9 cases van zoutwaterverdrinking en in 1/4 van zoetwaterverdrinking. Opvallend was dat 13/16 ontbindingscases dit teken vertoonden. Bij de controlegroep was in slechts 2/31 cases dit teken te zien. De studie demonstreert dat hemolytische verkleuring van de intima van de aorta vaak te zien is in lichamen in ontbinding. Dit komt doordat de rode bloedcellen die hemoglobine bevatten, worden afgebroken na verloop van tijd en dat geeft de aortawortel (en truncus pulmonalis!) zijn donkerrode verkleuring. Het teken werd ook gezien in ernstig verbrande lichamen (warmte-geïnduceerde hemolyse) en in gegeneraliseerde hemolyse (zoals sepsis). Samengevat neemt de studie aan dat in afwezigheid van andere oorzaken van hemolyse, dit teken een specifieke, maar niet sensitieve marker, is voor zoetwaterverdrinking (71).

#### 4.3. De toekomst: opkomst en potentieel van nieuwe technieken en biomarkers

##### 4.3.1. Beeldvorming: virtopsy = virtual autopsy

In 2003 werd het *Virtopsy* project opgestart door de Universiteit van Bern. Het inzetten van CT en MRI in forensische context maakt het mogelijk om niet-invasieve, objectieve, opvraagbare beelden te maken. *Virtual autopsy* heeft vele voordelen: het is een alternatief voor mensen die door culturele of persoonlijke redenen geen klassieke autopsie willen/kunnen ondergaan. Ook voor besmettelijke en gevaarlijke kadavers (biohazard) kan dit een veilige optie zijn. Ook zijn CT/MRI-beelden handig als bewijs in de rechtbank. De beelden zijn namelijk minder 'bloederig' en bijgevolg minder schokkend. Ook spreken bepaalde verwondingen, zoals schedelfracturen voor zich op beeld (72, 73).

De laatste jaren is er steeds meer onderzoek naar virtuele autopsie, en zijn er ook reeds studies in de context van verdrinking. Voor het gebruik van CT als enige techniek voor diagnose verdrinkingsdood is er voorlopig nog niet voldoende bewijs dat dit betrouwbaar kan

gebeuren. Zo kon in deze studie bij 4 van de 4 verdrinken cases met CT-virtopsy alleen de diagnose niet gesteld worden. Er was steeds een bijkomende klassieke autopsie nodig (74).

Een andere studie toonde dat het niet mogelijk is om enkel op basis van CT-beelden een onderscheid te maken tussen verdrinking en niet-verdrinkingsasfyxie. Een groot aantal van de onderzochte kenmerken waren namelijk in beide groepen aanwezig (20), wat ook zo is voor de klassieke autopsietekenen.

De huidige literatuur ligt in lijn met wat Lo Re et al. (75) zegt, namelijk dat CT als screening voor klassieke autopsie kan helpen in diagnose, maar dat het nu nog te vroeg is om te voorspellen of op termijn de CT-scan de klassieke autopsie effectief kan vervangen.

#### 4.3.1.1. Post Mortem Computed Tomography (PMCT): artificial intelligence (AI)

Zoals reeds in meerdere paragrafen vermeld, kan CT een rol spelen in de diagnose van verdrinkingsdood. Zo kan bijvoorbeeld de hoeveelheid sinusvloeistof gemeten worden zonder dat het lichaam moet worden opengemaakt (22). Hoewel er steeds meer kennis is over artificiële intelligentie (AI) en CT, is er weinig literatuur over het gebruik van AI op post mortem CT-beelden, en nog minder literatuur over AI op PMCT in het kader van verdrinkingsdooddiagnose.

Nu is er een onderzoeksgroep uit de Tohoku University, in Sendai, in Japan die onderzoek doet naar dit niche-onderwerp. Met de opkomende evolutie van AI zal het belang van AI enkel groeien. Vandaar volgende vermelding van enkele studies (76-79) over een mogelijk model dat kan helpen in de diagnose van verdrinkingsdood.

Volgens de auteurs is er een tekort aan specialisten die zowel de radiologische kennis hebben in combinatie met de kennis over post mortem veranderingen en diagnoses. Ook is het beoordelen van CT-beelden een tijdrovend proces. Daarmee het voorstel van een *computer-aided-diagnosis (CAD) system*. CAD-systemen helpen artsen in de diagnose aan de hand van medische beelden. Het voorgestelde CAD-systeem is gebaseerd op een *deep convolutional neural network (DCNN)* en classificeert PMCT-longfoto's in een verdrinking of een niet-verdrinkingsgroep op basis van patroonherkenning.

Deze paper gaat niet in op de technische details van AI. De focus ligt op het nut en de diagnostische waarde die deze toepassing kan betekenen. Zo werd de prestatie van het systeem getoetst met AUC en veelbelovende resultaten werden bekomen: een AUC van 0.88 (76); AUC tot 0.983 (77); AUC van 0.95 (78); AUC van 0.95 (met opmerkelijk lagere (81%) accuraatheid in cases waar CPR was uitgevoerd) (79). Deze cijfers tonen het potentieel van een *DCNN-based-CAD* systeem.

#### 4.3.1.2. Post Mortem MRI (PMMR)

De literatuur over MRI in de verdrinkingsdoodcontext schiet tekort. De indicaties voor PMMR zijn beperkt tot: beoordeling van de nek bij mechanische asfyxie, neonatale en pediatrische dood en vermoeden van myocardinfarct (80). Voor onderzoeksdoeleinden kan PMMR wel gebruikt worden, maar het literatuuronderzoek van deze paper kon geen enkel relevant artikel over PMMR in de context van verdrinking terugvinden. Hier wordt dus ook niet verder op ingegaan.

#### 4.3.2. PCR 'snelle test'

Naast de reeds besproken diatomeeën die bij verdrinking het lichaam binnenstromen, bestaat er een pool van micro-organismen die bepaald kunnen worden met bijvoorbeeld PCR (*polymerase chain reaction*). PCR is een snelle efficiënte techniek die (in de toekomst) ingezet kan worden om de diagnose van verdrinking te vergemakkelijken. Drie onderzoeken worden aangehaald in deze paragraaf om het potentieel van deze methode uit te lichten.

Een studie uit 2021 onderzocht de sensitiviteit (en specificiteit) van nieuw ontwikkelde primers voor de detectie van diatomeeën, cyanobacteriën, aeromonas. De *SYBR Green real-time qPCR*-methode kan de diagnose van verdrinking sneller en accurater stellen dan de moeizame en tijdrovende klassieke diatomeeëntest. De detectierange is minstens 0.0001 nanogram wat het hoogsensitief maakt. Bovendien was de test specifiek, aangezien geen van de drie menselijke symbiose-bacteriesoorten positief toonden met de test. In vergelijking met de *MD-VF-Auto-SEM*-methode is deze test milieuvriendelijker en sneller (door de *non-nitric acid*) (81).

Een ander alternatief op de klassieke zuurdigestietest voor diatomeeën is de multiplex PCR methode. De test omvat twaalf nieuw ontwikkelde primers die gericht zijn op specifieke genen van diatomeeën, cyanobacteriën en aeromonas. De specificiteit werd aangetoond doordat geen van de diersoorten, humane symbiose bacteriesoorten of humaan genoom DNA, positief resultaat toonde. Kortom, geen enkele niet-verdronken case toonde een positief resultaat. De sensitiviteit is 0.0125 ng, wat inhoudt dat er minstens zoveel template DNA aanwezig moet zijn voor een goede testuitvoering (82).

De aanwezigheid van micro-organismen kan gedacht worden ook door post mortem onderdompeling te worden veroorzaakt. Deze studie toonde dat het DNA van een cyanobacteria (*microcystis aeruginosa*) werd gevonden met PCR in de longen van zowel verdronken als post mortem onderdompeling cases. Hier bestaat dus overlap, maar in hart, nier, lever, milt, bot en hersenen, werd de cyanobacterie enkel gevonden bij verdronken personen. Dit kan dus een mogelijke specifieke marker zijn (83).

#### 4.3.3. Nieuwe markers met immunohistochemische kleuring

In een studie van 1590 waterlijken, hadden 964 cases (60.6%) geen indirect bewijs of macromorfologische pathologische bevindingen om met zekerheid de diagnose van verdrinkingsdood te stellen. Dit toont nogmaals dat de huidige diagnostiek tekort schiet en bijkomend onderzoek naar nieuwe markers of verbetering van huidige technieken nodig is (33). De literatuur toont ook dat in de laatste jaren steeds meer op zoek is gegaan naar nieuwe markers, in de hoop dat deze wel pathognomonisch zijn voor de diagnosestelling van verdrinkingsdood. Het is dus essentieel om naast de klassiekere tekenen van verdrinking, ook enkele nieuwere, sommige nog experimentele markers te beschouwen.

Het volgende deel van de paper beschrijft markers die in experimentele fase zijn en vaak nog niet geïmplementeerd in de praktijk. Het betreft: surfactant proteïne A (SP-A) en D (SP-D), P-selectine, heat shock proteïne 70 (HSP70), aquaporine 2 (AQP2) en 5 (AQP5), fibronectine, IL-6, IL-1-bèta, IL-10, tumor necrosis factor alfa (TNF- $\alpha$ ), RAGE, apolipoproteïne (ApoA1), alfa-1-antitrypsine, arginine-vasopressine, vasopressine-receptor-2 en renine.

De paper focust niet op de techniek maar op het potentieel van deze marker in correcte diagnose van verdrinking.

Jaar en referentie	Onderzochte parameters met meettechniek	Studiedesign	Resultaat
2017 Lee et al. (84)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• SP-A</li> </ul> Immunohistochemische (IHC) kleuring	3 groepen ratten: verdrinking, post mortem onderdompeling en controle groep	Hogere expressielevels van SP-A in de long werden gevonden in verdronken ratten, vergeleken met post mortem onderdompeling en niet-verdrinking. Kortom, SP-A is een mogelijke marker voor diagnose verdrinkingsdood.
2019 Lee et al. (85)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• SP-A</li> <li>• RAGE</li> <li>• AQP5</li> <li>• IL-6</li> <li>• IL-1-<math>\beta</math></li> </ul> mRNA en immunoblot expressie, IHC kleuring op longweefsel	4 groepen ratten: verdrinking (zoet en zout), post mortem onderdompeling, hypoxie, controle (cervicale dislocatie)	<p>De pulmonaire expressie van SP-A mRNA was het hoogst in hypoxiegroep, gevolgd door de post mortem onderdompelingsgroep. De expressie was niet significant in de verdronken groep en deze studie acht deze marker dan ook niet nuttig in de differentiatie tussen verdrinking en post mortem onderdompeling.</p> <p>De studie toont een potentieel voor RAGE en AQP5 expressie als marker voor verdrinking. In vergelijking met post mortem onderdompeling, hypoxiegroep en controlegroep toonde mRNA en western blotting met IHC kleuring, een hogere expressie in de verdrinkingsgroep.</p> <p>Geen meerwaarde in de diagnose van verdrinking werd gevonden voor de markers IL-6 en IL-1-<math>\beta</math>.</p>
2019 Barranco et al. (86)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• SP-A</li> <li>• AQP5</li> <li>• HSP70</li> <li>• Fibronectine</li> <li>• P-selectine</li> </ul> IHC expressie op longweefsels	3 groepen: 10 zoetwaterverdrinkingcases, 10 zoutwaterverdrinkingcases en 10 controles (acute externe bloeding)	<p>Er werd voor de markers: AQP5, HSP70, fibronectine, P-selectine, geen enkel significant verschil gevonden tussen de groepen.</p> <p>Voor SP-A werd wel een significant verschil gevonden tussen de groepen: namelijk, minder membraan SP-A in de zoutwaterverdrinkingsgroep ten opzichte van controlegroep en voor het granulaire patroon was de expressie hoger in de verdrinkingsgroepen ten opzichte van de controlegroep. Niettemin blijft SP-A een relatief niet-specifieke marker, aangezien histochemische positiviteit ook werd beschreven in andere types van gewelddadige asfyxie.</p>
2020 Barranco et al. (87)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AQP2</li> <li>• arginine-vasopressine</li> </ul>	10 cases zoet-, 10 cases zoutwaterverdrinking, 10 cases hoofdschotwonde	De expressie van AQP2 en AVP was significant hoger in zoutwatercases dan in zoetwatercases en controlecases. Voor vasopressine-receptor-2 werd er geen significante verschil gevonden tussen de

	<ul style="list-style-type: none"> <li>• vasopressine receptor 2</li> <li>• renine</li> </ul> <p>IHC kleuring op nier</p>		<p>groepen. Expressie van tubulair renine was significant hoger in zowel zoet als zout water in vergelijking met controles. Kortom, renine kan dus niet gebruikt worden voor verschil zoet of zout maar kan wel bijdragen in diagnose van verdrinking of niet.</p>
2022 Frisoni et al. (88)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AQP5</li> </ul> <p>In long en nier</p>	15 cases zoet-, 15 cases zoutwaterverdrinking, 17 controles	<p>In long en nier werd AQP5 expressie significant onderdrukt in zoet water in vergelijking met zout water en controlegroep.</p> <p>AQP5 kan dus een marker zijn voor de differentiatie tussen zoet en zout water. Net zo zeer als het gebruikt kan worden als marker om diagnose zoet water kracht bij te zetten.</p>
2012 Miyazato et al. (89)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• SP-A, SP-D</li> <li>• TNF-<math>\alpha</math></li> <li>• IL-1-<math>\beta</math>, IL-10</li> </ul> <p>IHC technieken en mRNA PCR</p>	Verdrinkingsdood versus controlegroepen (24 acute mechanische asfyxie door nekcompressie en verstikking, 11 hypothermie, 23 verwondingen, 13 intoxicatie, 18 brand met dodelijke afloop, 9 acute cardiale dood)	<p>SP-A en SP-D mRNA levels waren lager voor verdrinking, mechanische asfyxie, vuurdood, acute cardiale dood, dan voor hypothermie en verwondingen.</p> <p>Interessanter was dat TNF-<math>\alpha</math>, IL-1-<math>\beta</math> en IL-10 mRNA levels hoger waren voor verdrinking en verdrinking met verwondingen ten opzichte van andere groepen.</p> <p>Deze resultaten wijzen op typisch patroon van longschade met onderdrukking van pulmonair surfactans (SP-A en D) en activatie van vroege fase inflammatie mediators bij verdrinking.</p>
2020 Hernández-Romero et al. (90)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• apolipoproteïne A1 (ApoA1)</li> <li>• alfa-1-antitrypsine</li> </ul> <p>1. proteomics pilotstudie 2. validatie-experiment</p>	1. 2 verdrinkingsdoden en 2 controles (1 ophanging en 1 polytrauma)  2. 16 verdrinkingscases en 9 controles (4 cardiovasculair, 1 ophanging, 2 polytrauma, 1 steekwonde, 1 drugoverdosis)	<p>De studie identificeerde twee eiwitten (apolipoproteïne A1 en alfa-1-antitrypsine) die anders werden geëxprimeerd tussen verdrinkingsdoodgroep en de controlegroep (deel 1). Een validatie-experiment (deel 2) met 16 verdronken cases en 9 controles, toonde dat ApoA1 hogere waardes kende in de verdronken groep, terwijl alfa-1-antitrypsine net lagere waardes kende. Ook werd een ROC-analyse opgezet. Voor alfa-1-antitrypsine werd geen diagnostisch waardevol resultaat bekomen. Echter, voor ApoA1 werd een cut-off waarde van 100 mg/dl bepaald. Hiermee kon 73.9% van alle cases correct geclassificeerd worden. De sensitiviteit was 89% en de specificiteit was 50%</p>

## 5. Discussie

De diagnose van verdrinking is moeilijk. Ook dit literatuuronderzoek kon geen pathognomonisch teken identificeren. Hieronder wordt wel overlopen in hoeverre er bewijs is voor de geïnccludeerde diagnostische markers.

### 5.1. Sinusvocht

Vloeistof in de paranasale sinussen (voornamelijk sferoïdale sinus) kan een aanwijzing zijn voor verdrinking, maar het is geen absoluut specifiek noch sensitief teken.

De aanwezigheid van vocht op zich is aspecifiek en is toe te wijzen aan verscheidene oorzaken. Meerderheid van de geïnccludeerde studies vond vocht terug in de controlecases (13, 15, 16, 20-23). Twee studies (14, 19) vonden geen vocht in controlecases, maar dit dan benoemen als een specifiek teken zou overhaast zijn doordat de steekproefgrootte beperkt was.

De hoeveelheid vocht is specifiek dan de aanwezigheid alleen. Meer vocht wordt teruggevonden bij verdrinking (13, 15, 16, 22, 24), maar niet elke studie vindt een significant verschil (17, 18).

Belangrijk is ook dat vocht kan ontstaan door ontbinding (13, 15) of door post mortem inloop (13) Dit zijn dus *confounders*. Hoewel Yajima et al. (18) argumenteert dat vochtinloop in de sinus niet mogelijk is post mortem, is er meer onderzoek nodig om dit verder te bewijzen.

De CT-scan kan net zoals de klassieke-spuit-en-naaldmethode de aanwezigheid en exacte hoeveelheid van het vocht bepalen.

De effectieve diagnostische waarde van aan/afwezigheid van sinusvocht werd door twee studies bepaald (14, 23), maar aangezien de studie van Chovallur et al. (14) geen vocht in de controlegroep vond, wekt het de illusie van een specifieke parameter. Beter is dus om te kijken naar de studie van Kawasumi et al. (23), die concludeert dat afwezigheid van vocht een argument voor uitsluiting is.

Diagnostische waarde studies (13, 24) die poogden cut-off waardes te bepalen, toonden dat de specificiteit en sensitiviteit zich rond de 70% situeerde. Kawasumi et al. (24) wijst op het probleem van een groot volume vocht bij enkele controlecases.

Samengevat, afwezigheid van sinusvocht is goed ter uitsluiting van verdrinkingdood en de aanwezigheid ervan is zwak aantoonend. Ontbinding kan ook vocht veroorzaken en als versturende factor fungeren. Wederom is dit geen absoluut teken, want sommige verdrinken lijken bevatten geen sinusvocht.



Meestal wordt de sfenoïdale sinus onderzocht. Toekomstig onderzoek zou het onderscheid tussen de verschillende paranasale sinussen beter kunnen nagaan in een vergelijkende studie, zodat kan uitgemaakt worden welke van de vier sinussen de grootste meerwaarde heeft in verdrinkingsdood. Vermoedelijk is dit de sfenoïdale, aangezien deze ook het meeste onderzocht is in de literatuur.

Onderzoek naar afkapwaarden is aan te raden. De aan- of afwezigheid op zich is namelijk te aspecifiek. Verder speelt de anatomische variatie van de sinusholten mogelijks een rol in de hoeveelheid vocht die kan worden teruggevonden. Bovendien wordt toekomstig onderzoek best uitgevoerd met controlegroepen die post mortem worden ondergedompeld in het water. Deze opmerking geldt algemeen, maar zeker voor vocht in de sinussen aangezien post mortem inloop van water plausibel is en nader onderzocht moet worden.

## 5.2. Milt

De bevinding van een laag gewicht van de milt bij verdrinking wordt ondersteund door volgende studies (25-29). Dit teken is echter niet specifiek voor verdrinking aangezien het gewicht van de milt vaak niet significant verschilt tussen verdrinking versus asfyxie (bijvoorbeeld ophanging) (26, 28, 29). Een studie (26) kon significant verschil tussen verdrinking en cardiale dood aantonen, terwijl Nishitani et al. (29) dit enkel significant kon aantonen ten opzichte van mannen met AMI.

Hoewel Haffner et al. (25) een kleine gecontraheerde bloedarme milt toeschrijft aan een adrenalinestressreactie bij verdrinking door hypoxie, bloeddrukdaling en huidafkoeling, is dit niet voldoende bewezen. Hadley en Fowler (27) schrijven het dan weer toe aan post mortem shift van vocht uit de milt. Hierover bestaat dus nog geen consensus.

PMCT kan gebruikt worden voor densiteitsbepaling van de milt. Vander Plaetsen et al. (19) toonde een significant lagere densiteit aan bij zoetwaterdrenkelingen ten opzichte van asfyxie. Een recentere studie kon ondanks lagere densiteitsresultaten bij verdrinking het significant verschil niet demonstreren (30).

Kleine milt komt dus voor bij verdrinking maar ook bij asfyxie, en is daarom dus niet specifiek als teken op zichzelf. Het kan wel een nuttig argument zijn om te denken aan verdrinking als asfyxie is uitgesloten, zeker bij aanwezigheid van andere suggestieve tekenen voor verdrinking.

## 5.3. Luchtwegen

De luchtwegen spelen een rol in veel pathologieën, waardoor het moeilijk is om een teken te vinden dat specifiek is voor verdrinking. De externe schuimzwam kent een relatief brede differentiaal diagnose volgens de literatuur (2), maar in twee studies werd het amper (33) tot

niet (15) gezien in de controlegroep. Het werd beschreven in 17.3-35.6% van de verdrinkingscases (15, 33). De externe schuimprop verdwijnt in de loop van de tijd of wordt soms per ongeluk weggeveegd. Ook is de rapportering bij de vondst van het lichaam soms gebrekkig (15).

De externe schuimprop wordt bij dierenexperimenten niet teruggezien na post mortem onderdompeling. De interne schuimvorming daarentegen vindt wel plaats bij post mortem onderdompeling (31).

Interne schuimvorming komt voor bij 20% van de niet-verdrinkingscases en in 46.5% van verdrinkingscases. Dit maakt het teken noch specifiek noch sensitief (33). Interne schuimvorming is minder aanwezig na reanimatie en ook minder na lange water ligtijd (15).

Paltaufse vlekken worden soms gezien en lijken volgens de studie van Schneppe et al. (15) specifiek te zijn voor verdrinking. Op basis van één studie kan echter geen conclusie getrokken worden.

Emfysema aquosum is door de hoge frequentie bij verdrinking een goede uitsluiter (15), maar door de brede differentiaal diagnose (9) en door zijn aanwezigheid in controlegroepen (15) een zwakke aantoner. Het teken wordt beïnvloed door reanimatie, ontbinding en lange waterligtijd (15).

Het belang van verdrinkingsgerelateerde tekenen wordt gedemonstreerd in de studie van Cihan et al. (32), die stelt dat zonder deze tekenen het onderscheid niet gemaakt kan worden tussen epilepsiedood in bad en verdrinking in bad. Verder laat deze studie zien dat veel verdrinkingscases geen enkel 'specifiek verdrinkingsteken' bezaten. Wat de eerdergenoemde stelling dat verdrinkingsdood een moeilijke diagnose is, bijkomend ondersteunt. De hoofdboodschap van deze paper is dat één teken onvoldoende is voor de diagnosestelling. Combinaties daarentegen verhogen de diagnostische zekerheid, bijvoorbeeld de externe schuimprop combineren met overlap longranden is wel vrij specifiek (33).

Hoewel significant hoger longgewicht gezien wordt bij verdrinking, is dit teken niet sluitend. 14.7% van de verdrongen cases had namelijk een longgewicht van minder dan 1000 gram (33). Bovendien toont een ROC-analyse dat het longgewicht waardeloos is in de diagnosestelling (10).

Hoewel de *drowning index* potentieel leek te hebben (26, 29), is zijn waarde reeds ontkracht (28, 34). Twee andere ratio's, LH en LB, zijn wel significant hoger in verdrinking, maar de door ROC-analyse bekomen diagnostische waarde was ook maar matig tot zwak (10).

De CT kan helpen bij het bepalen van longvolume en het identificeren van longpatronen.

Longvolume op zich is lastig omdat er veel interindividuele variabiliteit is. Hiervoor is longvolumeratio mogelijks wel een oplossing (35). Voor deze parameter werd een significant verschil gevonden. Meer onderzoek is echter vereist om gefundeerde conclusies te trekken.

Longveranderingen zijn specifiek: veel ziektes kunnen leiden tot hetzelfde longbeeld. Zo kon een studie op basis van de longveranderingen niet eens een significant verschil maken tussen verdrinking en opioïdenoverdosis (37). Een ander voorbeeld is dat GGO ook zeer frequent wordt gezien in controlecases (vooral cardiogeen longoedeem) (20, 36) en dus specifiek is.

#### 5.4. Gastro-intestinaal

Het teken van Wydler wordt in ongeveer 20% van de verdrinkingsdoden gezien (15, 19, 39). Het werd bij de geïncludeerde studies (15, 39) niet in de controlegroep gezien, wat de specificiteit ten gunste komt.

Maagmucosalaesies werden gezien in 5.4-21.1% van de verdrinkingsdoden (15, 38). Het wordt toegeschreven aan braken en kokhalzen tijdens verdrinking en lijkt kans op vitale verdrinking te verhogen.

Verder werd verdunning van de intestinale inhoud gezien bij 50% van de verdrongen cases en bij slechts 5% van de controles (15). De hypothese dat de maagdensiteit lager en het maagvolume hoger is door ingestie van water bij verdrinking wordt ondersteund door twee studies (19, 21). Van Hoyweghen et al. (20) kon daarentegen geen significant verschil in maaginhoudensiteit aantonen ten opzichte van een asfyxiegroep.

Voorzichtigheid is geadviseerd bij het gebruik van de PMCT voor het bepalen van lagen maaginhoud. PMCT is hiervoor niet even betrouwbaar als klassieke autopsie (39).

Behalve de studie van Mishima et al. (21), zijn er onvoldoende studies die als controlegroep post mortem onderdompeling hebben. Net zoals bij de sinussen is de post mortem inloop van water plausibel. Verder onderzoek wordt best gevoerd met een controlegroep die post mortem ondergedompeld werd. Mishima et al. (21) toonde reeds aan dat bij effectieve verdrinking er een hogere maaginhoud en lagere densiteit was in vergelijking met andere doodsoorzaken in bad.

Samengevat, het teken van Wydler is vrij suggestief voor verdrinking, maar is vaak niet aanwezig. Maagmucosalaesies kunnen wijzen op een reactiviteit van het slachtoffer tijdens verdrinking. Indien afwezig sluiten deze echter zeker geen verdrinking uit. Verdunning van de maaginhoud vindt over het algemeen plaats, maar is op zichzelf een vrij zwak argument.

### 5.5. Skeletbloedingen

Over de diagnostische waarde van skeletbloedingen bestaat er te weinig literatuur om hieruit gefundeerde conclusies te trekken. Het lijkt meer een historisch beschreven fenomeen dat nooit meer getoetst is en zomaar wordt aangenomen. Wel kan gezegd worden dat het eerder een zeldzaam fenomeen is wat de sensitiviteit van dit teken erg laag maakt. Kortom, als het aanwezig is, kan er gedacht worden aan verdrinking, maar het is allesbehalve bewijzend als losstaand argument (15, 40).

### 5.6. Spierbloedingen

Spierbloedingen (van ademhalingsspieren en spieren rond de scapula) in de forensische context zijn allesbehalve specifiek voor verdrinking (15, 41, 42). Het fenomeen wordt soms zelfs vaker gezien in niet-verdrinkingscases (15).

Interessanter voor de forensische geneeskunde is het mechanisme waardoor spierbloedingen ontstaan. De meeste studies ondersteunen de theorie dat spierbloedingen rond scapula en de bovenste ledematen een resultaat zijn van bewust actieve wanhoopsdaad tijdens het verdrinken (43, 44). Spierbloedingen ter hoogte van de ademhalingsspieren worden dan weer toegeschreven aan de verhoogde ademhalingsarbeid tijdens het verdrinken (42, 44). Opvallend is dat bij zelfdoding het aantal spierbloedingen minder aanwezig was, wat duidt op het bewuste karakter van deze bewegingen (43). Een studie vermeldt wel dat als er geen (sub)cutane hematomen zijn en dus enkel intramusculaire bloedingen zonder andere bovenliggende traumata, dat dit wel vrij suggestief is voor verdrinking (42).

Er kan dus gesteld worden dat skeletspierbloedingen een resultaat zijn van de verdrinkingsdoodstrijd en dat dit teken vrij veelvoorkomend is, maar dat het minstens evenveel wordt gezien in een niet-verdrinkingscontext. Het teken op zich is dus te zwak om verdrinking te bewijzen.

### 5.7. Diatomeeën

De langbestaande diatomeeën test is reeds talloos getoetst. Hoewel de test wel sneller, efficiënter en minder invasief gemaakt kan worden, blijft de aanwezigheid van vals positieven een heikel punt (45-48).

### 5.8. Biochemische elementen

Biochemische elementen kunnen gemeten worden in verschillende lichaamsvochten. Een voordeel van concentratiebepaling is dat er cut-off waardes kunnen bepaald worden. Deze kunnen dan met ROC-analyse op diagnostische meerwaarde onderzocht worden. Het onderscheid tussen zoet- en zoutwaterverdrinking is soms mogelijk door het hemoconcentratie/hemodilutie-mechanisme.

### *Strontium*

Strontium is een indicator voor zoutwaterverdrinking aangezien de concentratie veel hoger is in zout water (49). Correcte classificatie van verdrinking met strontiumwaardes schommelt rond 80%. Correcte classificatie van niet-verdrinking loopt op tot 97.2% (51, 52), wat strontium een hoge NPV geeft. Voor zoet water daarentegen kan strontium weinig betekenen. Azparren et al. (50) kon maar in 32% van de zoetwatercases een juiste diagnose stellen. Ook is de LV-RV-concentratieverschil enkel significant voor zout water ten opzichte van controle, en niet voor zoet versus controle (53).

Kortom, het gebruik van Sr als parameter vereist dus een voldoende hoge concentratie in het watermedium. Vandaar het advies van Piette et al. (49) voor staalname van het watermedium.

### *Glasvocht*

In zoutwaterverdrinking is de concentratie natrium en chloride hoger dan in de controlegroep die onderdompeling had ondergaan. Voor magnesium geldt dit ook. De vraag is echter of dit door osmose/diffusie is, dan wel of dit is door het effectieve verdrinkingsproces. Aangezien na een uur de concentratie enorm stijgt, wijst dit op passieve instroom van elektrolyten in het oog door immersie. Als een test enkel betrouwbaar is als de onderdompelingstijd minder dan een uur is, dan is deze in praktijk zelden bruikbaar. Een waterlijk wordt immers niet altijd snel uit het water gehaald (55-58).

Voor zoet water zijn de natrium- en chloride- en magnesiumconcentratie net gedaald, en dit wordt ook toegeschreven aan post mortem diffusie aangezien het in relatie staat met de onderdompelingstijd (59). Hieruit kan geconcludeerd worden dat deze parameters in glasvocht waardeloos zijn indien het lijk niet direct uit het water is gehaald.

### *CSF*

CSF ligt meer afgescheiden dan glasvocht en lijkt minder gevoelig aan post mortem diffusie tijdens onderdompeling. Een experiment van Paulis en Hasan (60) met post mortem ondergedompelde konijnen toonde aan dat deze groep in elektrolytconcentraties amper verschilt van de droge controlegroep. Belangrijk om op te merken is dat de onderdompelingstijd slechts 10 minuten bedroeg, wat dus de invloed van lange post mortem en immersietijd niet in rekening brengt. Zomaar extrapoleren naar de menselijke praktijk met lichamen die meestal voor langere tijd ondergedompeld zijn, zou overhaast en incorrect zijn. Het experiment toont ook aan hoe elektrolytconcentraties dalen in zoutwaterverdrinking en hoe ze stijgen bij zoutwaterverdrinking (zie algemene begrippen). Deze theorie geldt dus niet enkel voor bloed, maar ook voor CSF.

Natrium- en chloorconcentraties stijgen bij zoutwaterverdrinking. De diagnostische waarde was niet meer dan matig (sensitiviteit en specificiteit ongeveer 70%), wat maakt dat dit

hoogstens indicatief kan zijn voor zoutwaterverdrinking of een bijkomstig ondersteunend in het diagnoseproces (61).

### *Pleuravocht*

Aanwezigheid van pleuravocht op zich is allesbehalve specifiek voor verdrinking (63). Elektrolytconcentraties met afkapwaarden zijn al nuttiger. De meest onderzochte en nuttige zijn natrium, chloor en kalium. De combinatie (som) van de drie toont goede (64) tot zeer goede (65) diagnostische waarde bij welbepaalde cut-offs. Door de dilutie/concentratietheorie kan een onderscheid gemaakt worden tussen zoet en zout. Handig was dat een studie aantoonde dat elektrolytenanalyse van pleuravocht ook nog een duidelijke 'verdrinking of geen verdrinking?-diagnose' gaf in ontbonden lichamen met lang PMI (65).

### *Bloed*

Er zijn weinig recente artikels over biochemische markerbepaling in serum. Mogelijks omdat hier weinig nieuwe inzichten bij worden verwacht. Hier geldt opnieuw de 'hemodilutie/concentratie-theorie', namelijk hogere concentratie elektrolyten bij zoutwater en lagere bij zoetwaterverdrinking (2).

Post mortem diffusie lijkt een voor de hand liggende *confounding* factor (51). Toekomstig onderzoek gaat best na in welke mate elektrolytconcentraties in het bloed beïnvloed worden door waterligtijd en PMI.

Mogelijke elementen die kunnen bijdragen tot de diagnose zijn: natrium, strontium, magnesium, chloor, ijzer en bromide. Strontium en bromide zijn zoutwaterverdrinkingsmarkers (51, 66, 67). Hiervoor is echter grondiger en grootschaliger onderzoek nodig alvorens op deze te vertrouwen bij diagnosestelling. In de praktijk zijn deze vermoedelijk meer ondersteunend dan effectief aantonend.

Een algemene opmerking in verband met biochemische elementen is dat de controlegroepen best post mortem ondergedompeld worden en dit lang genoeg zodat de diffusie-invloed ook accuraat kan beoordeeld worden.

### *Sinusvocht*

Een onderzoek toonde dat bromide en chloride in het sferoïdale sinusvocht enkel in zoutwatercases werd gedetecteerd met EDX en niet in zoet water. Wel werd het ook bij de controlegroep teruggevonden (16).

Voor natrium, chloor (en magnesium) werden cut-offs bepaald die dan wijzen op ofwel zoet- of zoutwaterverdrinking. Hoewel in de studie de cases konden worden ingedeeld zonder overlap, wordt dit in de praktijk toch best gecombineerd met andere tekenen (17).

Net zoals bij pleuravocht is de som van elektrolyten nuttig voor differentiatie zoet-, zout- en niet-verdrinking. Hier is echter  $SUM_{Na+K}$  alleen beter dan  $SUM_{Na+K+Cl}$  (64).

### *Longweefsel*

Mogelijk potentieel werd gesuggereerd voor de broom- en strontiumconcentratie in longweefsel die hoger waren bij zoutwaterverdrinking (68). Verder onderzoek moet de waarde hiervan nog uitwijzen.

### *Ijzer*

De diagnostische waarde van ijzer is weinig onderzocht. Mogelijks heeft het RV-LV-concentratieverschil potentieel, maar neem in acht dat lange PMI en ontbinding deze waarde hoogstwaarschijnlijk beïnvloeden (51, 69).

## 5.9. Hemolytische bloedvatverkleuring

Er bestaat weinig experimenteel bewijs over de aanwezigheid van roodverkleuring van de intima van de aorta. Gehemolyseerd bloed kan in staat zijn de aortawortel te verkleuren (66). Dit teken is eerder weinig voorkomend (15, 70) en wordt ook gezien bij niet-verdrinking (15, 71). Wel wordt het vaker gezien bij zoet- dan zoutwaterverdrinking, wat past in de hemodilutietheorie (13).

Ontbindingscases vertonen dit teken regelmatig en alle andere oorzaken van hemolyse kunnen dit ook veroorzaken (bijvoorbeeld: verbranding, sepsis) (71).

Volgens Zivković et al. (13) is het een teken dat vaak onopgemerkt blijft, wat de lage frequenties in retrospectieve studies kan verklaren. Mogelijks is het toch een kenmerkend teken voor verdrinking, maar gaat er gewoonweg weinig aandacht naar. In de praktijk kan aangeraden worden meer oog te hebben voor dit teken en dit ook beter te rapporteren.

Kortom, hemolytische verkleuring van de intima van de aorta kan in afwezigheid van andere oorzaken van hemolyse een bijkomend argument zijn voor waterverdrinking (in het bijzonder zoetwaterverdrinking), maar dit dient altijd samen met andere suggestieve verdrinkingstekens beschouwd te worden. Doordat het zeldzaam werd teruggevonden, is afwezigheid zeker geen uitsluiter van verdrinking.

## 5.10. Toekomst

### *Beeldvorming*

Voorlopig is het nog niet mogelijk om voor de diagnose van verdrinking alleen te vertrouwen op post mortem beeldvorming. Er bestaan geen pathognomonische tekenen en dus ook niet op PMCT. Voordelig is wel dat beeldvorming minimaal invasief is en dat de beelden als visueel bewijsmateriaal kunnen gebruikt worden in de rechtbank en ze ook steeds opnieuw op te

roepen zijn. Er zijn de laatste jaren beduidend meer studies over *virtopsy* en ook meer over dit concept in de verdrinkingscontext (72, 73). Er zijn echter nog meer en grotere omvang studies nodig om een definitief antwoord te geven op de vraag of *virtopsy* de klassieke autopsie kan vervangen. Het lijkt er op dat dit (nog lang) niet aan de orde zal zijn. CT wel kan gebruikt worden als screening vóór de klassieke autopsie, of indien de familie bezwaren heeft tegen het openmaken van het lichaam (door culturele redeneren of persoonlijke overtuigingen). Ook kan PMCT gebruikt worden voor sinusvochtmeting, longveranderingen, maaginhoud, -volume en -densiteitsbepaling, en is het zeker nuttig bij biohazardkadavers (72, 73).

Er wordt recent ook geëxperimenteerd met *artificial intelligence* en diagnostische algoritmes (76-79), maar voordat dit effectief in de praktijk gebruikt zal worden, is meer en grootschaliger onderzoek nodig. Over MRI in de context van verdrinkingsdood is bijna geen literatuur voorhanden. De focus ligt steeds op CT.

### *PCR*

Ideaal zou de ontwikkeling van een snelle PCR test zijn die met één staalafname kan zeggen of de persoon verdronken is of niet. Onderzoekers trachten om een samenstelling van micro-organismen te vinden die specifiek is voor verdrinking en niet wordt gezien in alle andere gevallen. Zo een combinatie zou de moeilijke diagnose van verdrinking kunnen simplificeren. Hoewel er wordt gezocht naar een dergelijke test (81, 82), bestaat er nog geen enkele die voldoende onderzocht en getest is in grote groepen en dus geen enkele die al implementeerbaar is in de praktijk. Er zijn wel reeds veelbelovende studies, zoals bijvoorbeeld de PCR-bepaling van *microcystitis aeruginosa* (83).

### *Immunohistochemische markers*

In de zoektocht naar een specifiek teken van de verdrinkingsdood, wordt de immunohistochemische expressie van enkele biomarkers als aanknooppunt gezien. De eerdervermelde tabel op pagina 32 toont dat er een verscheidenheid aan markers werd onderzocht de laatste jaren. Hoewel enkele markers potentieel tonen, is de diagnostische waarde nog niet voldoende onderzocht om een nieuwe marker als diagnostisch betrouwbaar te benoemen, laat staan om deze markers effectief in praktijk te gebruiken bij diagnosestelling. Markers met potentieel zijn de volgende: SP-A, RAGE, AQP2, AQP5, AVP, renine, IL-10, apolipoproteïne A1 en alfa-1-antitrypsine (84-90).

Het is dus wachten op een allesomvattende test/marker die de diagnose 100% kan aantonen of uitsluiten. Voorlopig lijkt het eerder utopisch en onwaarschijnlijk dat er zo één bestaat. Diagnosestelling zal dus moeten blijven gebeuren met de combinatie van alle bevindingen en uitsluiting van andere oorzaken, en dit alles in multidisciplinair samenwerkingsverband.



### 5.11. Aanbevelingen

Deze paper bevat enkel tekenen waarover er recente literatuur betreffende diagnostische waarde beschikbaar was. Voor veel tekenen schiet de beschikbare literatuur echter tekort, waardoor meerdere tekenen niet aan bod zijn gekomen in deze paper. Een idee voor vervolgonderzoek is om de hiaten in de literatuur in beeld te brengen en op te sommen bij welke kenmerken van verdrinking de diagnostische waarde nog niet is nagegaan. Kenmerken gebruiken die louter historisch beschreven zijn in een enkele observationele studie maar nooit getoetst zijn, is geen *evidence-based medicine*. Als de diagnostische waarde van tekenen wel onderzocht werd, ontbrak het vaak aan conclusies die veralgemeend kunnen worden. Een teken dat niet in de controlegroep gezien werd, mag niet overhaast specifiek genoemd worden. Een kleine steekproefgrootte kan de illusie van specificiteit wekken. In de toekomst is er nood aan onderzoeken die als controlegroep post mortem onderdompeling uitvoeren en ook vergelijken met meer dan één enkele doodsoorzaak. Ook is het belangrijk dat het aantal geïnccludeerde cases groot genoeg is, om de conclusie voor algemeen te kunnen aannemen. Ethisch is het natuurlijk moeilijk om post mortem onderdompeling uit te voeren bij overleden mensen. Gedacht kan worden dat dierenexperimenten dan soelaas kunnen bieden, maar dit is ethisch ook delicaat. Bovendien moet extrapolatie van dier naar mens steeds met kritische blik gebeuren. In realiteit bestaat een absoluut specifieke en sensitieve marker (die alleen én altijd te zien is bij verdrinking) eerder niet, dus wordt er daarnaast best op zoek gegaan naar cut-off waardes (met goede resultaten na ROC-analyse) bij kwantificeerbare parameters.

Zoals Xiao et al. (82) voorstelde, kan een PCR sneltest met een combinatie van talrijke micro-organismen mogelijks een efficiënte manier zijn om in de toekomst de diagnose te stellen. Daar is de wetenschap echter nog niet aan toe en voorlopig zal de combinatie van alle tekenen en het kundig oordeel van de wetsdokter de diagnose bevestigen of uitsluiten.

In deze paper werd Bayesiaanse statistiek niet uitgevoerd. De grote verscheidenheid tussen studies onderling maakte het moeilijk om resultaten naast elkaar te leggen. De studies verschilden in populatie (en locatie), onderzoeksopzet (bijvoorbeeld andere controlegroepen). Bovendien was het aantal geïnccludeerde cases in een studie vaak beperkt. Over enkele parameters bestond overigens weinig literatuur die frequentie beschreef. De invloed van *confounders* (zoals ontbinding en waterligtijd) is ook moeilijk in rekening te brengen, aangezien deze gegevens niet altijd bekend zijn of beschreven werden, en ze vooral tussen de studies varieerden. De bewijskracht van een parameter kan in de toekomst mogelijks wel bepaald worden, indien er specifiek op één parameter wordt gefocust en gegevens worden verzameld met oog op statistische verwerking. Dit vergt echter een andere aanpak dan de meer beschrijvende aanpak die in deze paper gehanteerd werd. Het zal evenwel een uitdaging zijn om vergelijkbaar cijfermateriaal te vinden bij voldoende grote steekproeven.

## 5.12. Samenvattende tabel

<b>Kenmerk</b>	<b>Aantonend</b>	<b>Uitsluitend</b>
<i>Aanwezigheid sinusvocht</i>	+	++
<i>Hoeveelheid sinusvocht</i>	+	++
<i>Laag gewicht en densiteit milt</i>	+	+
<i>Externe schuimprop</i>	++	+
<i>Interne schuimvorming</i>	+	+
<i>Emfysema aquosum</i>	+	++
<i>Paltaufse vlekken</i>	++	+
<i>Overlap van de longranden</i>	++	+
<i>Overlap van de longranden in combinatie met externe schuimprop</i>	++	/
<i>Longgewicht</i>	+	0
<i>Longvolume</i>	0	0
<i>Longvolumeratio</i>	+	/
<i>Drowning index</i>	0	0
<i>Ratio's long-hart &amp; long-lichaam</i>	+/	+/
<i>Longveranderingen</i>	+	+
<i>GGO</i>	0	0
<i>Wydler's teken</i>	++	+
<i>Maagmucosalaesies</i>	++	+
<i>Verduunning maaginhoud (lagere densiteit)</i>	+	+
<i>Groter maagvolume</i>	+	+
<i>Skeletbloedingen</i>	+	0
<i>Spierbloedingen</i>	+	++
<i>Diatomeeën</i>	+	++
<i>Serum strontium in zout water</i>	+	++
<i>Serum strontium in zoet water</i>	0	0
<i>Glasvocht (Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, Mg<sup>2+</sup>)</i>	0	0
<i>CSF (bv. Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>)</i>	+/	+/
<i>Pleuravocht (bv. SUM<sub>Na+K+Cl</sub>)</i>	++	++
<i>Bloed biochemische elementen</i>	/	/
<i>Sinusvocht biochemische elementen</i>	/	/
<i>Longweefsel (Br, Sr)</i>	+/	/
<i>Serum ijzer</i>	+/	/
<i>Hemolytische aortaverkleuring</i>	+	+/

Met ++: goed; +: zwak; 0: waardeloos; /: weinig studies voor beoordeling.

De verscheidenheid van studies (controlegroep, steekproefgrootte, studiedesign, al dan niet bepaling sensitiviteit/specificiteit) maken het moeilijk algemene conclusies te trekken. Deze tabel is een interpretatie van de geïnccludeerde studies in deze paper. Bij beoordeling van een parameter werd rekening gehouden met: het aantal studies, steekproefgrootte van studie, de mate van consensus van de studies onderling, de frequentie van voorkomen bij zowel verdrinkingsgroep als controlegroep, berekening van diagnostische waarde (specificiteit, sensitiviteit, AUC), de beïnvloedbaarheid door *confounders* en in hoeverre de parameter/test implementeerbaar is in de praktijk.

## 6. Conclusie

De diagnose van verdrinkingsdood is moeilijk vanwege het gebrek aan sluitende diagnostische tekens. Het onderscheid met dumping van het lijk in water na de dood of sterfte in het water niet door verdrinking, is complex. Tekens van verdrinking kunnen typisch zijn, maar zijn nooit 100% specifiek of sensitief. De onderzoekers in de geïncorporeerde studies beschreven hun onderzochte marker meestal als 'indicatief voor verdrinking' of 'versterkt het vermoeden op verdrinking', maar absolute taal werd nooit gebruikt. Aangezien een teken op zichzelf weinig meerwaarde heeft, is de combinatie van alle waarnemingen noodzakelijk. Ook exclusie van andere oorzaken blijft cruciaal. Bovendien geldt: hoe meer tekenen teruggevonden kunnen worden die wijzen naar verdrinkingsdood, hoe groter de waarschijnlijkheid van deze diagnose.

Verder kan gesteld worden dat er over meerdere tekenen weinig recent onderzoek is die de diagnostische waarde toetst. In het bijzonder is er een tekort aan onderzoek met grote aantallen en verscheidene doodsoorzaken in de controlegroep. Idealiter wordt de controlegroep post mortem ondergedompeld, dit is ethisch echter delicaat.

De wetenschap blijft actief op zoek naar nieuwe markers in de hoop een specifiekere of sensitievere te vinden. Ondanks soms veelbelovend onderzoek is er voorlopig nog geen *holy grail* die 100% diagnostische zekerheid verschaft.

PMCT is voorlopig niet in staat de klassieke autopsie te vervangen. Wel kan PMCT gebruikt worden voor vochtmeting in de sinussen, longveranderingen, maaginhoud, -volume en -densiteitsbepaling. Ook is PMCT van nut bij biohazardkadavers en kan het een alternatief zijn voor klassieke autopsie bij mensen die door culturele of persoonlijke redenen dit niet willen/kunnen ondergaan.

Samenvattend kan gesteld worden dat geen enkel teken of test de diagnose van verdrinkingsdood met zekerheid kan stellen. Het voorlopig niet-bestaan van waterdichte pathognomonische tekens blijft een probleem. De diagnose zal in de praktijk dus blijven berusten op de combinatie van vaststellingen bij autopsie, elementen van het strafdossier (met onder andere getuigenissen, camerabeelden,...) en de uitsluiting van andere doodsoorzaken. Multidisciplinaire samenwerking is en blijft essentieel voor de diagnose van verdrinking. Het onderzoek van een waterlijk gebeurt in de toekomst mogelijks meer met behulp van CT (na voldoende onderzoek over exacte waarde en indien voldoende geschoold personeel beschikbaar is) en AI zal waarschijnlijk de weg naar forensische geneeskunde ook meer en meer vinden. Wellicht brengt toekomstig onderzoek nieuwe specifieke markers aan het licht die de diagnose van verdrinking makkelijker maken. Idealiter wordt een 'waterdichte' test ontwikkeld die snel de diagnose kan stellen. In tussentijd zal echter het samenleggen van alle resultaten en excluderen van andere oorzaken de gouden standaard blijven.

## 7. Referentielijst

1. WHO. Drowning 2021. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/drowning>.
2. Van de Voorde W. Handboek forensische geneeskunde. 3e gewijzigde en herziene editie ed: Brugge : Die Keure; 2016.
3. Burford AE, Ryan LM, Stone BJ, Hirshon JM, Klein BL. Drowning and near-drowning in children and adolescents: a succinct review for emergency physicians and nurses. *Pediatr Emerg Care*. 2005;21(9):610-6; quiz 7-9.
4. Piette MH, De Letter EA. Drowning: still a difficult autopsy diagnosis. *Forensic Sci Int*. 2006;163(1-2):1-9.
5. Armstrong EJ, Erskine KL. Investigation of Drowning Deaths: A Practical Review. *Acad Forensic Pathol*. 2018;8(1):8-43.
6. Stephenson L, Van den Heuvel C, Byard RW. The persistent problem of drowning - A difficult diagnosis with inconclusive tests. *J Forensic Leg Med*. 2019;66:79-85.
7. Tipton M, Montgomery H. The experience of drowning. *Med Leg J*. 2022;90(1):17-26.
8. Vennemann B, Brinkmann B. Death occurring in water. *Rechtsmedizin*. 2003;13(4):201-15.
9. Dettmeyer RB. Histopathology of Selected Trauma. In: Dettmeyer RB, editor. *Forensic Histopathology: Fundamentals and Perspectives*. Cham: Springer International Publishing; 2018. p. 47-83.
10. Tse R, Garland J, Kesha K, Morrow P, Lam L, Elstub H, et al. The Potential Diagnostic Accuracy of Autopsy Lung Weights, Lung-Heart Ratio, and Lung-Body Ratio in Drowning Deaths. *Am J Forensic Med Pathol*. 2018;39(3):223-8.
11. Hajian-Tilaki K. Receiver Operating Characteristic (ROC) Curve Analysis for Medical Diagnostic Test Evaluation. *Caspian J Intern Med*. 2013;4(2):627-35.
12. Necas P, Hejna P. Eponyms in forensic pathology. *Forensic Science Medicine and Pathology*. 2012;8(4):395-401.
13. Zivković V, Babić D, Nikolić S. Svechnikov's sign as an indicator of drowning in immersed bodies changed by decomposition: an autopsy study. *Forensic Sci Med Pathol*. 2013;9(2):177-83.
14. Chovallur MJ, Hitheshsanker TS, Ajay B, Mathew T. Study of the diagnostic value of the presence of free liquid within the sphenoid air sinuses (Svechnikov's sign). *Indian Journal of Forensic Medicine and Toxicology*. 2018;12(4):40-3.
15. Schneppe S, Dokter M, Bockholdt B. Macromorphological findings in cases of death in water: a critical view on "drowning signs". *Int J Legal Med*. 2021;135(1):281-91.
16. Tanaka N, Kinoshita H, Jamal M, Takakura A, Kumihashi M, Miyatake N, et al. Detection of chlorine and bromine in free liquid from the sphenoid sinus as an indicator of seawater drowning. *Leg Med (Tokyo)*. 2015;17(5):299-303.
17. Hayakawa A, Terazawa K, Matoba K, Horioka K, Fukunaga T. Diagnosis of drowning: Electrolytes and total protein in sphenoid sinus liquid. *Forensic Sci Int*. 2017;273:102-5.
18. Yajima D, Inokuchi G, Makino Y, Motomura A, Chiba F, Torimitsu S, et al. Diagnosis of drowning by summation of sodium, potassium, and chloride ion levels in sphenoidal sinus fluid: Differentiating between freshwater and seawater drowning and its application to brackish water and bathtub deaths. *Forensic Sci Int*. 2018;284:219-25.
19. Vander Plaetsen S, De Letter E, Piette M, Van Parys G, Casselman JW, Verstraete K. Post-mortem evaluation of drowning with whole body CT. *Forensic Sci Int*. 2015;249:35-41.
20. Van Hoyweghen AJ, Jacobs W, Op de Beeck B, Parizel PM. Can post-mortem CT reliably distinguish between drowning and non-drowning asphyxiation? *Int J Legal Med*. 2015;129(1):159-64.
21. Mishima S, Suzuki H, Fukunaga T, Nishitani Y. Postmortem computed tomography findings in cases of bath-related death: Applicability and limitation in forensic practice. *Forensic Sci Int*. 2018;282:195-203.
22. Lundemose SB, Jacobsen C, Jakobsen LS, Lynnerup N. Exact volumetric determination of fluid in the paranasal sinuses after drowning. *Journal of Forensic Radiology and Imaging*. 2015;3(2):111-6.

23. Kawasumi Y, Kawabata T, Sugai Y, Usui A, Hosokai Y, Sato M, et al. Assessment of the relationship between drowning and fluid accumulation in the paranasal sinuses on post-mortem computed tomography. *Eur J Radiol.* 2012;81(12):3953-5.
24. Kawasumi Y, Kawabata T, Sugai Y, Usui A, Hosokai Y, Sato M, et al. Diagnosis of drowning using post-mortem computed tomography based on the volume and density of fluid accumulation in the maxillary and sphenoid sinuses. *Eur J Radiol.* 2013;82(10):e562-6.
25. Haffner HT, Graw M, Erdelkamp J. Spleen findings in drowning. *Forensic Sci Int.* 1994;66(2):95-104.
26. Sugimura T, Kashiwagi M, Matsusue A, Hara K, Kageura M, Kubo S. Application of the drowning index to actual drowning cases. *Leg Med (Tokyo).* 2010;12(2):68-72.
27. Hadley JA, Fowler DR. Organ weight effects of drowning and asphyxiation on the lungs, liver, brain, heart, kidneys, and spleen. *Forensic Sci Int.* 2003;133(3):190-6.
28. Ellis LT, Opsahl M, Duff DJ, Stacy CC. Application of the Drowning Index to Opioid & Multidrug Intoxication Deaths: A Retrospective Analysis. *Acad Forensic Pathol.* 2019;9(1-2):44-50.
29. Nishitani Y, Fujii K, Okazaki S, Imabayashi K, Matsumoto H. Weight ratio of the lungs and pleural effusion to the spleen in the diagnosis of drowning. *Leg Med (Tokyo).* 2006;8(1):22-7.
30. Chatzaraki V, Verster J, Tappero C, Thali MJ, Schweitzer W, Ampanozi G. Spleen measurements with reference to cause of death and spleen weight estimation: A study on postmortem computed tomography. *Journal Forensic Radiology and Imaging.* 2019;18:24-31.
31. Reijnen G, Vos P, Buster M, Reijnders U. Can pulmonary foam arise after postmortem submersion in water? An animal experimental pilot study. *J Forensic Leg Med.* 2019;61:40-4.
32. Cihan E, Hesdorffer DC, Brandsoy M, Li L, Fowler DR, Graham JK, et al. Dead in the water: Epilepsy-related drowning or sudden unexpected death in epilepsy? *Epilepsia.* 2018;59(10):1966-72.
33. Lunetta P, Penttila A, Sajantila A. Circumstances and macropathologic findings in 1590 consecutive cases of bodies found in water. *Am J Forensic Med Pathol.* 2002;23(4):371-6.
34. Wardak KS, Buchsbaum RM, Walyzada F. The Drowning Index: implementation in drowning, mechanical asphyxia, and acute myocardial infarct cases. *J Forensic Sci.* 2014;59(2):399-403.
35. Jian J, Wan L, Shao Y, Zou D, Huang P, Wang Z, et al. Postmortem chest computed tomography for the diagnosis of drowning: a feasibility study. *Forensic Sci Res.* 2021;6(2):152-8.
36. Levy AD, Harcke HT, Getz JM, Mallak CT, Caruso JL, Pearse L, et al. Virtual autopsy: two- and three-dimensional multidetector CT findings in drowning with autopsy comparison. *Radiology.* 2007;243(3):862-8.
37. Jakobsen SR, Hansen IB, Harders SW, Thomsen AH, Pedersen CCE, Boel LWT, Hansen K. Quantitative analysis of pulmonary structures in PMCT; Stereological comparison of drowning compared to opioid-overdose cases. *Foren Imag.* 2022;28:6.
38. Blanco Pampín J, García Rivero SA, Tamayo NM, Hinojal Fonseca R. Gastric mucosa lesions in drowning: its usefulness in forensic pathology. *Leg Med (Tokyo).* 2005;7(2):89-95.
39. Gotsmy W, Lombardo P, Jackowski C, Brencicova E, Zech WD. Layering of stomach contents in drowning cases in post-mortem computed tomography compared to forensic autopsy. *Int J Legal Med.* 2019;133(1):181-8.
40. Babin RW, Graves NN, Rose EF. Temporal bone pathology in drowning. *Am J Otolaryngol.* 1982;3(3):168-73.
41. Oshima T, Ohtani M, Mimasaka S. Muscular Hemorrhages Around the Scapula Provide Insight on the Manner of Asphyxia: A Preliminary Study. *Am J Forensic Med Pathol.* 2021;42(2):130-4.
42. Onitsuka D, Nakamae T, Katsuyama M, Miyamoto M, Higo E, Yatsushiro M, Hayashi T. Epidemiological analysis of intramuscular hemorrhage of respiratory and accessory respiratory muscles in fatal drowning cases. *PLoS One.* 2021;16(12):e0261348.
43. Oshima T, Ohtani M, Mimasaka S. Muscular hemorrhages around the scapula resulting from excessive upper extremity motion in cases of fatal drowning: autopsy findings for insights on manner of death. *Forensic Sci Int.* 2019;300:82-4.

44. Girela-López E, Ruz-Caracuel I, Beltrán C, Jimena I, Leiva-Cepas F, Jiménez-Reina L, Peña J. Histological Changes in Skeletal Muscle During Death by Drowning: An Experimental Study. *Am J Forensic Med Pathol.* 2016;37(2):118-26.
45. Lunetta P, Miettinen A, Spilling K, Sajantila A. False-positive diatom test: A real challenge? A post-mortem study using standardized protocols. *Legal Medicine.* 2013;15(5):229-34.
46. Zhou Y, Cao Y, Huang J, Deng K, Ma K, Zhang T, et al. Research advances in forensic diatom testing. *Forensic Sci Res.* 2020;5(2):98-105.
47. Shen XF, Liu Y, Xiao C, Zheng C, Huang JF, Shi H, et al. Analysis of false-positive results of diatom test in the diagnosis of drowning-would not be an impediment. *Int J Legal Med.* 2019;133(6):1819-24.
48. Fejes V, Kozma Z, Poor VS, Sipos K. Sternal aspirate sampling of Bacillariophyceae (diatoms) and Cyanobacteria in suspected drowning cases. *J Forensic Leg Med.* 2022;85.
49. Piette M, Timperman J, Parisis N. Serum strontium estimation as a medico-legal diagnostic indicator of drowning. *Med Sci Law.* 1989;29(2):162-71.
50. Azparren JE, Fernandez-Rodriguez A, Vallejo G. Diagnosing death by drowning in fresh water using blood strontium as an indicator. *Forensic Sci Int.* 2003;137(1):55-9.
51. Pérez-Cárceles MD, del Pozo S, Sibón A, Noguera JA, Osuna E, Vizcaya MA, Luna A. Serum biochemical markers in drowning: diagnostic efficacy of Strontium and other trace elements. *Forensic Sci Int.* 2012;214(1-3):159-66.
52. Pérez-Cárceles MD, Sibón A, Gil Del Castillo ML, Vizcaya MA, Osuna E, Casas T, et al. Strontium levels in different causes of death: diagnostic efficacy in drowning. *Biol Trace Elem Res.* 2008;126(1-3):27-37.
53. Gurler AS, Gundogmus UN, Buyuk Y, Ince HC, Sezer Y. Contribution of biventricular cardiac blood and pleural effusion strontium concentrations to the diagnosis of drowning. *Romanian Journal Legal Medicine.* 2015;23(2):101-5.
54. Azparren JE, Perucha E, Martínez P, Muñoz R, Vallejo G. Factors affecting strontium absorption in drownings. *Forensic Sci Int.* 2007;168(2-3):138-42.
55. Cala AD, Vilain R, Tse R. Elevated postmortem vitreous sodium and chloride levels distinguish saltwater drowning (SWD) deaths from immersion deaths not related to drowning but recovered from saltwater (DNRD). *Am J Forensic Med Pathol.* 2013;34(2):133-8.
56. Anne S, Tse R, Oldmeadow C, Attia JR, Cala AD. Immersion of Bovine Eyeballs After 1 Hour in Seawater Does Not Result in Elevation of Postmortem Vitreous Humor Sodium and Chloride Levels. *Am J Forensic Med Pathol.* 2016;37(2):108-11.
57. Garland J, Tse R, Oldmeadow C, Attia J, Anne S, Cala AD. Elevation of post mortem vitreous humour sodium and chloride levels can be used as a reliable test in cases of suspected salt water drowning when the immersion times are less than one hour. *Forensic Sci Int.* 2016;266:338-42.
58. Tse R, Kuo TC, Kesha K, Garland J, Garland S, Anne S, et al. Postmortem Vitreous Humor Magnesium Does Not Elevate in Salt Water Drowning When the Immersion Time Is Less Than an Hour. *Am J Forensic Med Pathol.* 2017;38(4):298-303.
59. Zilg B, Alkass K, Berg S, Druid H. Interpretation of postmortem vitreous concentrations of sodium and chloride. *Forensic Sci Int.* 2016;263:107-13.
60. Paulis MG, Hasan EI. Electrolytes and Biochemical Changes in Cerebrospinal Fluid in Drowning: Experimental Rabbit Model. *Am J Forensic Med Pathol.* 2018;39(3):236-41.
61. Garland J, McCarthy S, Hensby-Bennett S, Philcox W, O'Regan T, Rousseau G, et al. Elevation of Postmortem Cerebrospinal Fluid Sodium and Chloride Levels Is a Potential Adjunct Test in the Diagnosis of Salt Water Drowning. *Am J Forensic Med Pathol.* 2019;40(3):251-7.
62. Garland J, Philcox W, Kesha K, Morrow P, Lam L, Spark A, et al. Differences in Sampling Site on Postmortem Cerebrospinal Fluid Biochemistry: A Preliminary Study. *Am J Forensic Med Pathol.* 2018;39(4):304-8.
63. Matoba K, Murakami M, Hayakawa A, Terazawa K. Application of electrolyte analysis of pleural effusion to diagnosis of drowning. *Leg Med (Tokyo).* 2012;14(3):134-9.

64. Yajima D, Saito H, Sato K, Hayakawa M, Iwase H. Diagnosis of drowning by summation of sodium, potassium and chloride ion levels in pleural effusion: differentiating between freshwater and seawater drowning and application to bathtub deaths. *Forensic Sci Int.* 2013;233(1-3):167-73.
65. Torimitsu S, Yajima D, Inokuchi G, Makino Y, Motomura A, Chiba F, et al. Electrolyte analysis of pleural effusion for discrimination between seawater and freshwater drowning in decomposed bodies. *J Forensic Leg Med.* 2022;90:102389.
66. Byard RW, Cains G, Simpson E, Eitzen D, Tsokos M. Drowning, haemodilution, haemolysis and staining of the intima of the aortic root-- preliminary observations. *J Clin Forensic Med.* 2006;13(3):121-4.
67. Takahashi M, Kinoshita H, Nishiguchi M, Nishio H. Bromide detection in blood using energy dispersive X-ray fluorescence; a chemical marker supportive of drowning in seawater. *Leg Med (Tokyo).* 2010;12(3):132-6.
68. Legaz I, Barrera-Pérez E, Prieto-Bonete G, Pérez-Martínez C, Sibón A, Maurandi-López A, Pérez-Cárceles MD. Trace elements in forensic human lung: A new approach to the diagnosis of seawater drowning. A preliminary study. *Forensic Sci Int.* 2021;323:110815.
69. de la Grandmaison GL, Leterreux M, Lasseuguette K, Alvarez JC, de Mazancourt P, Durigon M. Study of the diagnostic value of iron in fresh water drowning. *Forensic Sci Int.* 2006;157(2-3):117-20.
70. Tsokos M, Cains G, Byard RW. Hemolytic staining of the intima of the aortic root in freshwater drowning: a retrospective study. *Am J Forensic Med Pathol.* 2008;29(2):128-30.
71. Byard RW, Cains G, Tsokos M. Haemolytic staining of the intima of the aortic root-- a useful pathological marker of freshwater drowning? *J Clin Forensic Med.* 2006;13(3):125-8.
72. Thali MJ, Yen K, Schweitzer W, Vock P, Boesch C, Ozdoba C, et al. Virtopsy, a new imaging horizon in forensic pathology: virtual autopsy by postmortem multislice computed tomography (MSCT) and magnetic resonance imaging (MRI)--a feasibility study. *J Forensic Sci.* 2003;48(2):386-403.
73. Thali MJ, Jackowski C, Oesterhelweg L, Ross SG, Dirnhofer R. VIRTOPSY - the Swiss virtual autopsy approach. *Leg Med (Tokyo).* 2007;9(2):100-4.
74. Cirielli V, Cima L, Bortolotti F, Narayanasamy M, Scarpelli MP, Danzi O, et al. Virtual Autopsy as a Screening Test Before Traditional Autopsy: The Verona Experience on 25 Cases. *J Pathol Inform.* 2018;9:28.
75. Lo Re G, Vernuccio F, Galfano MC, Picone D, Milone L, La Tona G, et al. Role of virtopsy in the post-mortem diagnosis of drowning. *La Radiologia medica.* 2015;120(3):304-8.
76. Homma N, Zhang X, Qureshi A, Konno T, Kawasumi Y, Usui A, et al. A Deep Learning Aided Drowning Diagnosis for Forensic Investigations using Post-Mortem Lung CT Images. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc.* 2020;2020:1262-5.
77. Zeng Y, Zhang X, Kawasumi Y, Usui A, Ichiji K, Funayama M, Homma N, editors. Deep Learning-Based Interpretable Computer-Aided Diagnosis of Drowning for Forensic Radiology. 2021 60th Annual Conference of the Society of Instrument and Control Engineers of Japan, SICE 2021; 2021.
78. Qureshi AH, Zhang X, Ichiji K, Kawasumi Y, Usui A, Funayama M, Homma N, editors. Deep CNN-Based Computer-Aided Diagnosis for Drowning Detection using Post-mortem Lungs CT Images. *Proceedings - 2021 IEEE International Conference on Bioinformatics and Biomedicine, BIBM 2021;* 2021.
79. Ogawara T, Usui A, Homma N, Funayama M. Diagnosing Drowning in Postmortem CT Images Using Artificial Intelligence. *Tohoku Journal of Experimental Medicine.* 2023;259(1):65-75.
80. Magnin V, Grabherr S, Michaud K. The Lausanne forensic pathology approach to post-mortem imaging for natural and non-natural deaths. *Diagnostic Histopathology.* 2020;26(8):350-7.
81. Yu Z, Xu Q, Xiao C, Li H, Wu W, Du W, et al. SYBR Green real-time qPCR method: Diagnose drowning more rapidly and accurately. *Forensic Sci Int.* 2021;321:110720.
82. Xiao C, Xu Q, Li H, Zhu X, Yu Z, Zhao J, et al. Development and application of a multiplex PCR system for drowning diagnosis. *Electrophoresis.* 2021;42(11):1270-8.

83. Voloshynovych VM, Kasala RO, Stambulska UY, Voloshynovych MS. Determination the presence of amplification products of 16s rRNA microcystis aeruginosa as a biomarker of drowning. *Romanian Journal of Legal Medicine*. 2019;27(1):16-21.
84. Lee SY, Woo SK, Lee SM, Ha EJ, Lim KH, Choi KH, et al. Microbiota Composition and Pulmonary Surfactant Protein Expression as Markers of Death by Drowning. *J Forensic Sci*. 2017;62(4):1080-8.
85. Lee SY, Ha EJ, Cho HW, Kim HR, Lee D, Eom YB. Potential forensic application of receptor for advanced glycation end products (RAGE) and aquaporin 5 (AQP5) as novel biomarkers for diagnosis of drowning. *J Forensic Leg Med*. 2019;62:56-62.
86. Barranco R, Castiglioni C, Ventura F, Fracasso T. Immunohistochemical expression of P-selectin, SP-A, HSP70, aquaporin 5, and fibronectin in saltwater drowning and freshwater drowning. *International journal legal medicine*. 2019;133(5):1461-7.
87. Barranco R, Ventura F, Fracasso T. Immunohistochemical renal expression of aquaporin 2, arginine-vasopressin, vasopressin receptor 2, and renin in saltwater drowning and freshwater drowning. *Int J Legal Med*. 2020;134(5):1733-40.
88. Frisoni P, Diani L, De Simone S, Bosco MA, Cipolloni L, Neri M. Forensic Diagnosis of Freshwater or Saltwater Drowning Using the Marker Aquaporin 5: An Immunohistochemical Study. *Medicina (Kaunas)*. 2022;58(10).
89. Miyazato T, Ishikawa T, Michiue T, Maeda H. Molecular pathology of pulmonary surfactants and cytokines in drowning compared with other asphyxiation and fatal hypothermia. *Int J Legal Med*. 2012;126(4):581-7.
90. Hernández-Romero D, Sánchez-Rodríguez E, Osuna E, Sibón A, Martínez-Villanueva M, Noguera-Velasco JA, Pérez-Cárceles MD. Proteomics in Deaths by Drowning: Diagnostic Efficacy of Apolipoprotein A1 and  $\alpha$ -1Antitrypsin, Pilot Study. *Diagnostics (Basel)*. 2020;10(10).