الفصل الثاني

العينات: اختيار, جمع, حفظ, امان

Specimen Selection, Collection, Preservation, and Security

أ. د علا مصطفى

1-الاوعية التي يتم فيها جمع العينات:

يوجد العديد من المشاكل التي تواجه الطبيب الشرعي لدى جمع العينات في حالات مابعد الوفاة مقارنة مع العينات التي يتم جمعها في المجالات الاخرى لعلم السموم الشرعي كالدراسة السمية للأداء البشري human performance toxicology و التقصي عن العقاقير في مجال العمل employment drug testing. يمكن ان تختلف كمية العينات مابعد الوفاة بحسب الحالة الأمر الذي يجعل جمع العينات و الحصول على نتائج مكررة و متقاربة صعبا.

ان لاستخدام اوعية جمع containers و مواد حافظة مناسبة دور هام يمكن المحلل السمومي من الكشف عن هوية العقار في أفضل الشروط. عادة ان أفضل الأوعية المستخدمة لدى جمع و تخزين السوائل البيولوجية مابعد الوفاة هي تلك المصنوعة من الزجاج. فالزجاج خامد غير فعال و لا يحتوي على اي مواد لدنة كما يزيد من حيز التخزين و لكن مشكلته قابل للكسر.

في حال التخزين لفترة طويلة يكون من الانسب استخدام الانابيب المصنوعة من زجاج البيريكس و التي تأتي بقياسات مختلفة . من المهم اختيار القياس المناسب لحجم كل عينة بحيث تملأ الانبوب و ذلك للتخفيف من: التفاعلات التأكسدية و التي تعود الى الهواء المتواجد في الحيز أعلى الأنبوب, تبخر المركبات الطيارة, salting-out" effects الناجم عن اضافة المواد الحافظة الى الانابيب و الذي يمكن ان يخفض من انحلالية العقار في العينة (هي تأثيرات ناجمة عن اضافة ملح الى محلول حاوي على شوارد عضوية مما يؤدي الى الانخفاض في انحلاليتها في هذا المحلول). بالعموم تشكل انابيب الزراعة بحجم 50 مل الخيار الأفضل لجمع عينات الدم و البول و يمكن ان تستخدم الأنابيب الأصغر (15,20,30 مل) لجمع كميات صغيرة من الدم و الخلط الزجاجي و الصفراء. لجمع عينات الانسجة الصلبة و محتوى المعدة من الأنسب استخدام الاوعية البلاستيكية . ان طبيعة النسيج الصلب يقلل من الاحتكاك المباشر مع الوعاء البلاستيكي كما ان تواجد العقاقير في محتوى المعدة يقلل من تأثيرات المواد اللدنة (مواد مضافة الى البلاستيك لتغيير خواصه الفيزيائية كزيادة مرونته و الحفاظ على استمراريته عادة ما يتلوث محتوى الاوعية البلاستيكية بها).

.

من المهم ان يقوم المخبر بتقييم مدى صلاحية الاوعية قبل ان يتم جمع العينات فيها. يمكن ان تقيم طبيعة و قابلية التلوث للاوعية من خلال اجراء تحليل لعينات بيولوجية يخالية من اي عقار يتم اختزانها في الأوعية لفترة من الوقت. اضافة لذلك يجب ان يتم اختيار الأوعية البلاستيكية بحيث يكون البلاستيك الداخل في تركيبها غير قابل للتشقق لدى تجميده فعلى سبيل المثال البوليسترين يتشقق في مثل هذه الظروف في حين يكون البوليبروبيلين مقاوم للتشقق.

2-حفظ العينات:

يجب حفظ عينات الدم من خلال اضافة 2% w/v من فلوريد الصوديوم الى وعاء الجمع . يعمل فلور الصوديوم على تثبيط الاحياء الدقيقة التي تعمل على تحويل الغلوكوز الى ايتانول (تمنع من ارتفاع تراكيز الايتانول في العينة) و تلك التي تقوم بعملية اكسدة الايتانول (تمنع من اختفاء الايتانول من العينة). كما يلعب فلور الصوديوم دورا في تثبيط الحلمهة الانزيمية للكوكائين بواسطة الكولين استراز في العينة و يمنعه من التحول الى ester *ecgonine methyl* و يمنع من اختفاء الاسترات الاخرى بفعل الانزيمات مثل *6-acetylmorphine*. عادة ما يتم خضوع الاسترات للحلمهة في وسط قلوي لذلك فهي تكون اكثر ثباتا في عينات الدم مابعد الوفاة لأن PH الدم يتناقص بعد الوفاة ليصبح حامضيا الامر الذي يجعل من تحميض الدم غير موصى به. تعمل بعض المخابر على اضافة مضادات التخثر مثل اوكسالات الكالسيوم,EDTA, سيترات الصوديوم بتركيز 5 mg/ml. في حال كانت كمية الدم التي يتم جمعها قليلة فإن اضافة كمية زائدة من الفلورايد يمكن ان يؤثر على تجارب الكشف عن المركبات الطيارة بطريقة ال headspace من خلال التأثير على ضغط التبخر للمركب المدروس. لذلك من الأفضل أخذ عينة دم من دون مواد حافظة . لدى جمع عينات الدم يجب ان تحفظ بدرجة حرارة منخفضة

.(4C short term and –20 C long term). تعمل درجات الحرارة المنخفضة على تثبيط النمو البكتيري و تبطيء التفاعلات الحرائكية كتحول الايتانول الى الاسيت الدهيد. يجب اخذ كمية كافية من العينة المحفوظة ووضعها في وعاء اخر aliquot و حفظها بالدرجة -20 في المجمدة حيث يتم استخدامها في التحاليل التوكيدية للمركبات الغير ثابتة كالكوكائين و الolanzapine واعادة تحليل الايتانول. ليس هناك حاجة لإضافة مواد حافظة للأنواع الاخرى من العينات كالبول و الصفراء و الخلط الزجاجي الا في الحالات التي يتم فيها تحليل الايتانول حيث يجب عندها فلور الصوديوم او البوتاسيوم. و كعينة الدم يجب حفظ جميع العينات في درجة -4 حتى اجراء الاختبار و من ثم تجميدها بالدرجة -20 في الحالات التي تتطلب تخزين العينة لفترة طويلة.

3-اختيار العينات:

يمكن تقسيم العينات الواجب أخذها الى نوعين:

1. عينات إجبارية obligatory specimens: و هي عينات يتم سحبها لدى اجراء التشريح مهما كان السبب المؤدي للوفاة و حتى ان لم يتطلب الأمر اجراء استقصاءات مكملة و تتضمن: الدم و لبول و المحتوى المعدي و الشعر.
2. عينات مكملة أو بديلة facultative or alternative specimens

تكون مكملة facultatives في حال كان هناك معطيات أولية تدل نحو عامل سمي معين و امكانية تواجده فيها. أو بديلة alternatives في حال عدم التمكن من الحصول على أحد أو جميع العينات الاجبارية, و تتضمن: الخلط الزجاجي, الصفراء, سوائل التخمر, اللعاب, الأحشاء **العينات الاجبارية:**

1-3الدم (Blood):

1-1-3اخذ العينات Sampling

يجب جمع عينات الدم مابعد الوفاة من موقعين هما القلب و موقع محيطي لدى اجراء كل عملية تشريح للجثة و اذا لم يكن هناك تشريح للجثة يتم جمع الدم المحيطي فقط. يتم جمع عينات الدم القلبي بإبرة سحب باستخدام hypodermic syringe. للحصول على عينة دم قلبي يتم فتح الغشاء المحيط بالقلب و ازالة غشاء الشغاف و سحب عينة الدم القلبي و يفضل ان تكون من الحجرة اليمينية و لكن بغض النظر من المكان الذي تجمع منه عينة الدم من القلب يجب تسجيل المكان الذي سحبت منه العينة. حجم عينة الدم القلبي التي يجب جمعها 50 مل او اكثر في حال الامكانية.

عادة يتم الحصول على الدم المحيطي من الوريد الفخذي حيث تفضل اوردة الساق على اوردة الرأس و العنق بسبب بنيتها التشريحية الحاوية على عدد كبير من الصمامات التي تقاوم حركة الدم من الأمعاء. تسحب عينة الدم المحيطي باستخدام سيرنغ تحت الأدمة و يتراوح حجمها بين 10-20 مل و يسجل على الانبوب التي توضع فيه العينة المصدر. تجمع خثرات الدم في حالات الصدمات على الرأس و يجب تجنب عينات الدم من التجويف البطني و الصدري بسبب الاحتمال الكبير لتلوثها بالميكروبات و في حال جمعها لا بد من تسجيل مصدر العينة بشكل واضح

.

2-1-3 اختيار العينات Selection

يشكل الدم العينة المرجع في علم السموم الشرعي لأنها العينة الوحيدة التي تسمح بطريقة كمية بتحديد تراكيز المواد (dosage) وربطها بتأثيرها الفيزيولوجي. من خلال معرفة تركيز المادة (علاجية, سمية, قاتلة) يمكن تحديد الدور الذي تلعبه المادة في تغيير سلوك الفرد, التسمم أو الوفاة.

في علم السموم مابعد الوفاة تعتبر هذه العينة الخيار الأول و العينة الأهم للكشف و التحديد الكمي للعقار و تفسير التراكيز التي يتم تحديدها. حيث النتيجة السلبية للتحليل تحت حدود الكشف لعقار معين تنفي فرضية التعرض الحاد له و في الحالة المعاكسة عندما تفوق تراكيز العقار او السم في الدم التراكيز العلاجية او التراكيز المسموح بها ب

10 او 20 مرة فهو دليل على حدوث حالة تسمم قد تكون مسؤولة عن الوفاة. بالاضافة لما سبق فإن تواجد المركب الأم بتراكيز عالية بالنسبة للمستقلبات يعتبر مؤشر على التسمم الحاد.

. عند توثيق الموت بالتسمم يكون تفسير النتيجة صعبا لدى اجراء تحليل عينة مأخوذة من الدم القلبي فيما يتعلق بالحالات التي تكون فيها العقاقير تخضع لظاهرة اعادة التوزع مابعد الوفاة حيث تكون التراكيز مرتفعة. في هذه الحالات يعتبر تحليل الدم المحيطي ذو أهمية في تحديد دور العقار في الموت و ذلك كون التراكيز تكون ثابتة و قليلة التأثر بإعادة التوزع مابعد الوفاة. بالعموم أن تراكيز الدم القلبي ترتفع و تراكيز الدم المحيطي ثابتة إلا أن ذلك ليس مطلق و ثابت و قد لا يكون كذلك في جميع الحالات لذلك فإنه لا يمكن الاكتفاء بعينة دم وحيدة بعد الوفاة لأن النتائج قد تصبح صعبة او مستحيلة التفسير. بما أن عينة الدم القلبي أكثر وفرة من الدم المحيطي تقوم العديد من المخابر بإجراء الاختبارات السمية الأولية على الدم القلبي و تحتفظ بالدم المحيطي للحالات التي تتطلب اجراءات اضافية للتفسير. على المحلل السمومي ان يقدر ان العينات التي يتم جمعها اثناء التشريح كعينة الدم هي ليست نفس العينة التي تجمع في حالات ماقبل الوفاة antemortem و التي تكون معتمدة على مبادئ الحركية الدوائية pharmacokinetic و التي ليس من الضرورة ان تنطبق على حالات مابعد الوفاة postmortem.

في حال الموت الناجم عن أذية تطال الرأس, يتم جمع خثرات الدم blood clots من تجويف الدماغ و التي تعتبر بمثابة كبسولات زمنية time capsules و التي يمكن ان تعكس تراكيز الكحول و العقاقير قريبة لتلك الموجودة في الزمن الذي تمت فيه الأذية. يتم اجراء تحليل روتيني للكحول على هذه العينات مع امكانية اجراء تحاليل خاصة لبعض العقاقير في حال تم الإشارة اليها. في حال عدم التمكن من جمع الانواع السابقة من عينات الدم (قلبة, فخذية, خثرات) يتم اللجوء الى جمع عينات دم من التجويف البطني او الصدري كخيار أخير بسبب احتمال تلوثها الكبير بالميكروبات.

3-1-3 تفسير النتائج Interpretation

في حالة الوفاة, إن التراكيز التي يتم تحديدها في العينات المأخوذة لا تعكس بالضرورة التراكيز الدموية الحاصلة عند الوفاة . حيث قد يحدث تغير في تراكيز المواد (أدوية, مواد سامة) بعد انقضاء زمن معين على الوفاة و تبعا للمكان التي يتم سحب العينة منه.

"Variations depending on the interval between death and sampling, and the sampling site"

هذه الاختلافات في التراكيز تعود لظاهرة إعادة التوزع مابعد الوفاة:

postmortem redistribution (PMR)

العوامل التي تلعب دور في ظاهرة ال PMR:

1. **زيادة تراكيز بعض العقاقير في بعض الأعضاء (Drug reservoirs):** يوجد العديد من العقاقير المحتجزة في حالة ماقبل الوفاة (antemortem) بنسب عالية في الأعضاء (الجهاز المعدي المعوي, الكبد, الرئة, القلب....). بعد الوفاة تخرج هذه العقاقير من أماكن احتجازها و يعاد انتشارها في الأنسجة المجاورة. إن ظاهرة الPMR تتم إما خلال الاوعية الدموية أو عبر الأغشية باتجاه الأعضاء المحيطة.
2. **التغيرات التي تطرأ على الجثة (Cadaveric changes):** و تتضمن موت و انحلال الخلايا (cell death), حدوث تخمرات بكتيرية (bacterial putrefaction) و تغيرات في تدفق الدم (blood movement)
3. **الخواص الحركية الدوائية للعقار(pharmacokinetic characteristics of drug):** تساهم في تسرب العقاقير الى الأنسجة المجاورة و نذكر منها:

Acidic/basic properties, Lipophilicity, Drug binding proteins or red cells, High volume of distribution (Vd), Residual metabolic activity

تتسبب ظاهرة اعاد التوزع في اختلاف تراكيز العقار بين العينات التي يتم سحبها من أماكن مختلفة مما يجعل من عملية تفسير النتائج صعبا في مجال السموم الشرعي.

للحد من مشكلة التفسير الخاطئ للنتائج (misinterpretation) من المهم جداً لدى اجراء اختبارات الدم في حالات مابعد الوفاة مقارنة التراكيز في عينات الدم المأخوذة من أماكن عدة. تؤخذ عينات الدم من القلب (Central site) و من الوريد الفخذي (peripheral site). تعتبر عينة الدم القلبي أكثر تأثراً بظاهرة ال PMR حيث تتواجد فيها العقاقير بتراكيز أعلى من المحيطي (يتواجد ال oxycodone في الدم القلبي بتراكيز تفوق الدم المحيطي ب 3 أضعاف). يجب الإشارة هنا إلى أن لدى الأشخاص على قيد الحياة تتواجد بعض العقاقير بتراكيز عالية في الدم القلبي (الديجوكسين) فبالتالي في حال كانت علاقة التراكيزفي الدم القلبي/التراكيز في الدم المحيطي أكبر من 1 لحظة الوفاة لا يجب نسب السبب مباشرة ال PMR أما في حال مرور وقت على الوفاة فإنه من الضروري حساب الزمن الفاصل بين الوفاة و أخذ العينة للتمكن من إجراء المقارنة بين النتائج.

يعتبر دم الوريد الفخذي عينة الخيار الأفضل في حالات التحليل السمي لما بعد الوفاة لأنها أقل تأثرا ب PMR و بعيدة عن الاحشاء الغنية بالعقاقير حيث لا يحيط بها سوى العضلات و الأنسجة الدهنية.

ملاحظات عامة:

- يعتبر الدم وسط بيولوجي معقد البنية لما يحتويه من مواد غير مرغوب فيها بالتحليل (بروتين, خلايا, ليبيد) لذلك من الضروري معالجة عينات الدم قبل البدء بتحليلها.
- يجب اجراء التحليل السمي للدم خلال مدة لا تتجاوز ال 24 ساعة بعد اخذ العينة.
- لدى حفظ عينات الدم يجب اضافة فلور الصوديوم عند تحليل بعض المركبات كالكوكائين (لتجنب تخربه) والايتانول (منع التخمر ذو منشأ بكتيري).

2-3 البول (Urine):

1-2-3 اختيار العينات Selection

تمتلك عينة البول التي يتم جمعها اثناء عملية التشريح القدرة الأكبر مقارنة مع اي عينة اخرى في تزويد المحلل السمومي معلومات كيفية تحدد نوع العقار الذي تم التعرض اليه قبل الوفاة. تمتاز عينة البول بنقائها (98%) و بساطة تركيبها حيث تخلو من بروتينات المصل و الليبيدات و غيرها من المركبات ذات الوزن الجزيئي الكبير و ذلك يعود الى وظيفة الفلترة الكلوية مما يجعل من عملية تحضير هذه العينات بسيطة لاجراء التحليل. ان تراكم العقاقير و مستقلباتها في البول يتسبب في جعل تراكيزها عالية مما يسهل من عملية الكشف. يمكن ان تجرى الاختبارات المناعية و التي لا تتطلب أجهزة التحليل مباشرة على عينة البول لتحليل فئات محددة من العقاقير. تتراوح نافذة التحري و هي الزمن الذي يمكن خلاله اجراء التحليل حيت يمكن ان تمتد من 24 ساعة و حتى الشهر و ذلك يعتمد على نوع العقار. و هكذا باستثناء الحالات التي يتم فيها الموت نتيجة التعرض الحاد للعقار حيث يكون الزمن المنقضي على الوفاة اقل من ساعة او يكون الزمن المنقضي غير كافي كي يتم اطراح العقار عبر البول, يشكل البول وسط مثالي للكشف عن طيف واسع من المركبات.

تشير نتيجة الكشف الايجابية عن المركبات عن استخدام سابق لها و لكن لا يمكن تحديد الزمن و الكمية المتناولة من العقار. لإيجاد تفسير لظروف التعرض لابد من اختبار المركبات التي تم الكشف عنها في البول باستخدام عينة الدم. في الحالات التي يحدث فيها الموت سريعا نتيجة لتناول عقار او من خلال اعطاؤه وريديا و الذي يمكن التنبه له عبر وجود اثار حقن في ذراع المتوفى, فإن نتائج التحليل السلبية للبول متوقعة اذا كانت تراكيز العقار عالية في الدم..

- هو تحليل مكمل لتحليل الدم: يمكن من خلال الكشف عن وجود المركب في البول و تحديد هويته, اختيار الشروط الأفضل لاستخراج هذا المركب من الدم (وسط معقد) و بالتالي يسمح بالحصول على تحديد كمي أكثر دقة .

1- **بغياب معلومات عن التصفية الكلوية للمركب لا يوجد أهمية كبيرة لتحديد تراكيز المركبات ومستقلباتها في البول** لا يسمح بتحديد الدور الذي يلعبه العقار في حدوث الموت: حساب التركيز في البول للمركب و مستقلبه لا يعطي فكرة عن التراكيز التي تواجد فيها هذا المركب في الدم و بالتالي لا يمكن تحديد فيما إذا كان هذا المركب هو سببا للوفاة أم لا

2- يسمح بمعرفة الوقت المنقضي على تناول العقار: من خلال المقارنة بين نسبة المركب الأم في الدم و نسبة مستقلباته في عينة البول. في حال غياب المستقلبات او تواجدها بنسب ضئيلة وتواجد المركب الأم في الدم بنسبة عالية خاصة اذا كانت لمركب معروف بمعدل استقلابه المرتفع و السريع فهذا دليل على أنه لم يمض وقت طويل على تناول العقار

2-2-3 اخذ العينات Sampling

يتم جمع البول اثناء تشريح الجثة مباشرة من خلال ادخال ابرة المحقن في المثانة. في الحالات التي لايتم فيها التشريح يمكن ادخال الابرة مباشرة في أسفل جدار البطن فوق العانة. كمية العينة التي يجب جمعها ان امكن أعلى من 100

مل. في الحالات التي تبدو فيها المثانة فارغة يتم سحب اكبر كمية ممكنة للبول من المثانة و الحالبين. و في حال غياب البول فمن المرغوب غسل المثانة بأقل كمية ممكنة من المياه و جمع العينة في اوعية نظيفة مع تعيين كتابة حجم الماء المستخدم في جمعها حيث ان اقل من 50 مل حجم عينة يمكن ان تكون مفيدة في تفاعلات الاستقصاء عن بعض العقاقير.

3-2-3. تفسير النتائج Interpretation

.في الحالات الأغلب مع وجود بعض الاستثناءات, على خلاف عينة الدم تكون العلاقة التي تربط بين تراكيز العقاقير المتواجدة في البول و تأثراتها الفارماكولوجية ضعيفة جدا إضافة الى عدم وجود ترابط وثيق بين التراكيز الدموية و التراكيز المتواجدة في البول. تتواجد العديد من العوامل التي تؤثر على تراكيز البول كمعدل الاستقلاب و معدل التصفية الكلوية و كمية السائل المعاد امتصاصه و درجة pH البول و زمن الإطراح المتعلق بالعقار. إن هذه العوامل تجعل من عملية تقدير التراكيز الدموية من خلال تحديد تراكيز البول عملية مستحيلة. يوجد بعض الاستثناءات التي لا ينطبق عليها ذلك فعلى سبيل المثال ان تراكيز الكحول في البول يمكن ان تستخدم في تحديد تقريبي لتراكيز الكحول في الدم و ذلك فقط في حال إفراغ المثانة بشكل كامل و يتم القياس على الإفراغ الثاني. يمكن قياس بعض المعادن الثقيلة المتواجدة في الجسم من خلال اجراء تحاليل على عينات البول يتم جمعها خلال 24 ساعة.

3-3 محتوى المعدة (Contents of stomach):

يعتبر السائل الناجم عن غسيل المعدة (في حالات التسمم السريري) أو محتوى المعدة (في حالات مابعد الوفاة) أوساطا فائقة الأهمية للتحليل المخبري. حيث في هذه الأوساط نجد السم كاملا وغير متخرباً, و يمكن وصف أهمية هذه العينة في نقطتين أساسيتين

1. **يسمح بسهولة بالكشف عن هوية المركب الذي يتم البحث عنه**

غالبا ما يكون هذا المركب بشكله الغير المستقلب مما يجعل من الممكن تحديد هويته بسهولة و سرعة باستخدام تقانات مناعية بسيطة

يمكن الاستدلال على هوية المركب من خلال قوام السائل المعدي (لزج, حاوي على دم,...), الرائحة (كحول, محل عضوي, هيدروكربونات كالبترول), وجود بقايا من أدوية أو بأشكالها الغير متخربة (مضغوطات, حبوب)

2. **يسمح بتحديد طريقة دخول المركب الى الجسم (فموي أو حقني).**

تواجد العقار بكميات قليلة في المحتوى المعدي ليس دليل قاطع على تناوله عبر الطريق الفموي. حيث قد يعود تواجده الى ظاهرة ال PMR التي تسبب انتقاله من الدوران الى المعدة. في حين تم الكشف عن كميات كبيرة للعقار في المعدة فهو دليل قاطع على تناول العقار عبر الفم.

يعتبر الطريق الفموي الطريق الرئيسي لإعطاء العقاقير الموصوفة مما يجعله من الأوساط الهامة و الرئيسية في التقصي عن حالة تسمم محتملة. ان فرط الجرعة , سواء كانت بشكل قصدي او عن طريق الخطأ, يمكن أت تكتشف من خلال تحليل محتوى المعدة. حيث في كثير من الحالات يمكن رؤية كبسولات او مضغوطات غير منحلة في المعدة و التي تساعد في عملية الكشف. اضافة لما سبق من الشائع أن يتم تهريب المخدرات من خلال ابتلاع عبوات واقية يتم تعبئتها بالسلع المهربة حيث أنه في حال انفجار هذه العبوات و حدوث الموت نتيجة التسمم الحاد بالعقار يمكن مشاهدة الدليل على ذلك في محتوى المعدة.

لابد من الإشارة الى ان تواجد العقار في محتوى المعدة هو دليل على إعطاء فموي له. في حال تواجد المركب الأم للعقار و بكميات كبيرة في محتوى المعدة فهو دليل و مؤشر على أن الحالة هي فرط جرعة فموية في حال تم دعمها بالموجودات الدموية و النسيجية. بالمقابل يتوجب على المحلل السمومي الانتباه أن تواجد تراكيز منخفضة للعقار في المعدة و خاصة مستقلبات العقار و الأسس الضعيفة يمكن أن تعود الى ظاهرة الانتشار البسيط او انتقال الشوارد التي تتم بالعودة من الدم الى محتوى المعدة و يمكن ألا تكون مؤشر لتناول فموي او تناول فموي حديث لهذه المركبات. من المهم تسجيل حجم محتوى المعدة لدى المتوفى لحساب الكمية الكلية للمركب المحلل المتواجد في المعدة. قبل اجراء تحليل محتوى المعدة لابد من مجانسة العينات لان محتوى المعدة هو وسط غير متجانس.

يمكن أن تشير رائحة محتوى المعدة الى عامل سمي محدد كالسيانيد الذي يتسبب في انبعاث رائحة اللوز المر من محتوى المعدة. نذكر من الروائح التي تعتبر كمؤشرات للتسمم ببعض المواد:

- odors include the “fruity-like” odor of ethanol and its congeners
- ; the odor of airplane glue (xylene, toluene);
- cleaning fluid (halogenated hydrocarbons)
- ; carrots (ethchlorvynol);
- garlic (organophosphate insecticides).

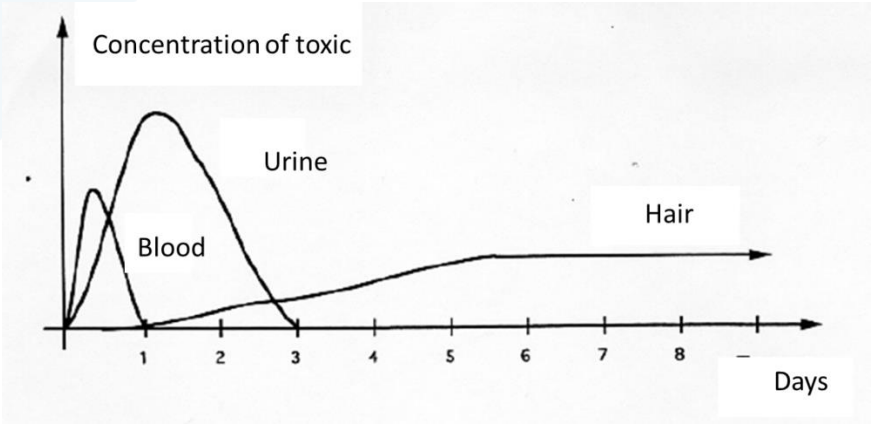
Sampling

لأن محتوى المعدة هو وسط غير متجانس و لأن حجم السائل المعدي الكلي مهم في تفسير الموجودات الايجابية, لا بد من جمع كامل محتوى المعدة و إرسالها للمخبر للتحليل. لجمع محتوى المعدة لا بد من ربط نهايات المعدة و اخراجها بحيث تكون بعيدة عن باقي العينات و الأنسجة خوفا من حدوث تلوث للأحشاء.

4-3. الشعر (Hair):

تحتل عينة الشعر مكانة و أهمية خاصة في السموم الشرعي. تعد هذه العينة الخيار الأول , اضافة للأظافر, في تحديد التسمم المزمن بالمعادن الثقيلة مثل الزرنيخ, الزئبق, الرصاص. حيث ترتبط هذه المعادن بمجموعات السلفيدريل المتواجدة على جزيئة السيستئين لتشكل معها معقد تساهمي. يعتبر الكيراتين المتواجد بكميات كبيرة في الشعر و الأظافر مصدر جيد للسيستئين مما يجعلها العينات المثالية للكشف عن التسمم المزمن بالزرنيخ و الزئبق. اضافة لعملية الكشف فإنه بالإمكان تحديد زمن التعرض من خلال تقطيع الشعر الى اجزاء (كل جزء 1 سم) و اجراء تحليل لكل جزء على حدى ((segmental analysis. مع التقدم في السنوات استخدمت عينة الشعر للكشف عن الاستخدام المزمن للعقاقير و التي تضمنت العقاقير التي يساء استخدامها و العقاقير العلاجية. في علم السموم ما بعد الوفاة يقدم ال segmental analysis معلومات تشير الى العقاقير التي يساء استخدامه و الوقت الذي تم فيه الاستخدام و التي يمكن من هذه المعلومات ملاحظة فيما اذا كان هناك مشاركات خطيرة للعقاقير او استخدام متزايد او متناقص لنوع من العقاقير. إضافة لذلك في حال تحلل و تفسخ الجثة حيث لا تبقى عينات جيدة للتحليل فإن نتائج الشعر الإيجابية تدل على قصة لاستخدام العقار. ان استخدام عينة الشعر للتحري عن العقاقير لدى الأشخاص العاملين تعتبر مهمة صعبة لامكانية تلوث الشعر من وسط العمل و من الصعب تحديد المستويات التي يمكن على اساسها تفسير النتائج cutoff concentrations يفضل اجراء تحليل الشعر اكثر بعد الوفاة حيث اصبحت مطبقة بشكل شائع للتحري عن الادوية و العقاقير الغير مشروعةو التي تزود بمعلومات اضافية تفيد في تفسير نتائج التحليل السمي الروتيني.

ان الاستقصاء السمي على الشعر يعتبر تقدما كبيرا في العقود الاخيرة في مجال علم السموم الطبي الشرعي. حيث يمكن اجراء الاستقصاء بعد انقضاء وقت طويل على الاستهلاك. شكلت عينات الدم و البول منذ وقت طويل الأساس في التحري الحيوي عن العقار و تشير الى الاستهلاك الحديث للعقار(ساعات, أيام). فيما تسمح عينة الشعر بالحصول على معلومات على المدى الطويل (عدة أسابيع, أشهر).



لالية المقترحة لدخول السموم في بنية الشعر:

- انتشار داخلي من خلال انتقال تلك السموم من الدم الى الخلايا المكونة لبصلة الشعر. ان هذه الخلايا تقوم باحتجاز المواد ضمن بنية كرياتينية ومن ثم تقوم المواد بالارتباط مع الميلانين (صباغ الشعر). ان معدل ارتباط المواد مع الميلانين يختلف حسب لون الشعر (حسب درجة تاكسد الميلانين). ان درجة تاكسد الميلانين في الشعر الغامق عالية مما يجعل كمية المواد المحتجزة فيه اعلى بكثير مقارنة مع الشعر الفاتح وذلك لدى تناول الكمية ذاتها. لقد تم ملاحظة انخفاض في مستوى المواد المخدرة (كوكائين, مورفين) في الشعر المنزوع اللون مقارنة مع الشعر ذات اللون الطبيعي الماخوذ من نفس الشخص.
- يمكن انتقال السموم الى الشعر خارجيا من خلال المفرزات العرقية و الدهنية.
- تتثبت السموم على الشعر ايضا من خلال تعرضه الى وسط بيئي ملوث (دخان النيكوتين والحشيش, ذرات الرصاص).

في حال دخول المادة في بنية الشعر فان ثباتها استثنائي حيث يكون بالامكان الكشف عن الكوكائين في شعر مومياء او جثة قديمة منذ مئات السنين.

بروتوكول جمع العينة الشعرية

- خصلة شعر بسماكة قلم الرصاص تكون كافية لاجراء التحليل.
- يجب عدم اقتلاع الشعر وانما يتم قصه اقرب مايكون من فروة الرأس وذلك بعد ربطه بحبلة صغيرة أعلى من الجذر ب 1 سم لتحديد اتجاه الشعر(جذر,نهاية).
- تحفظ الخصلة المجدولة في ظرف بدرجة حرارة الغرفة حيث توضع بظرف في مكان جاف.

تحليل الشعر

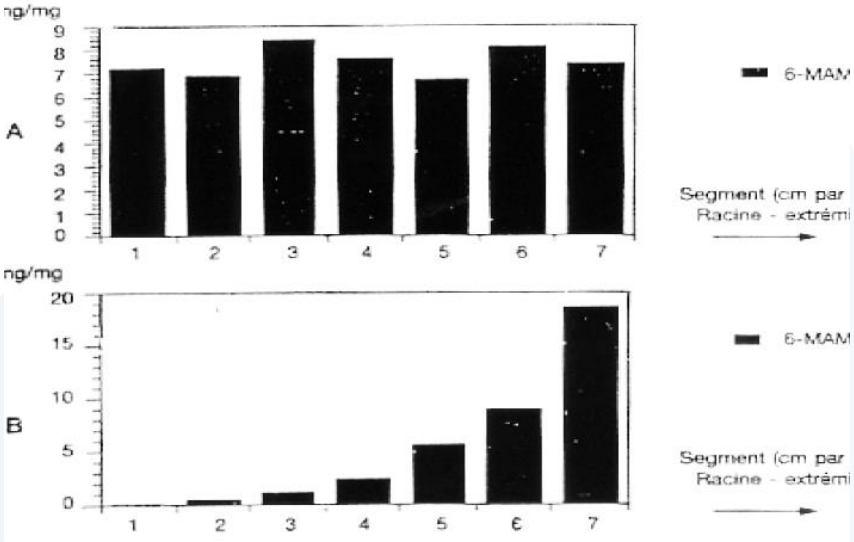
ينمو الشعر بمعدل 1 سم بالشهر, و تحليله سنتيمتر بعد سنتيمتر بدءاً من الجذر (دليل على الاستهلاك الحديث للعقار) باتجاه الأطراف (الاستهلاك الأكثر قدماً في الوقت) يتم قص الشعر إلى أجزاء (كل جزء يعادل 1 سم وسطياً) و من ثم يتم معالجة كل جزء على حدى (إزالة تلوث, طحن وحلمهة, استخلاص) و من ثم تتم عملية التحليل.

أهمية عينة الشعر

يمتلك خاصية متفردة في كونه وسيلة فعالة للكشف عن فيما إذا كان الاستهلاك عرضياً أو متكرراً (fragmental analysis)

Establish the consumption profile in the long term and its evolution

1. يسمح بتتبع تغيرات الاستهلاك (منتظم و ثابت, متزايد, متناقص)
(evolution of consumption)



حيث يبين الشكل A استهلاك منتظم للهيروئين و الشكل B استهلاك متناقص للهيروئين (حالة فطام).

2. تحديد الاستهلاك المزمن للعقار
(retrospective calendar chronic consumption)

ان اخذ عينات فورية للشعر مع عينة الدم و البول تسمح بتحديد استعمال مزمن للعقار. ان الكشف عن العقار في الدم و (او) البول و غيابه في الشعر هو دليل على أخذ جرعة وحيدة من المركب.

تفيد هذه التقنية في الكشف عن نمط التسمم, مثال: هنري 32 سنة وجد ميتا في منزله. كشف تحليل الدم عن حالة تسمم حاد بال aldicarb و هو مبيد حشري كارباماتي و بدت الحادثة كأنها حالة تسمم عرضي بهذا المبيد.تم الشك من قبل القضاء عن إمكانية ان يكون التسمم متكرر و ان تكون هناك جريمة قتل وراء حادثة الوفاة هذه. و خاصة ان الضحية كانت تعاني من توعكات صحية لدى اجراء تحليل الشعر تبين وجود المركب الكارباماتي دليل على انه تم اعطاؤه للضحية بشكل متكرر.

3. طول نافذة التحري (detection window)

تسمح عينة الشعر بالكشف عن اخذ العقار لحظة الحدث حتى بعد مرور فترة بين الواقعة و الشكوى (أسابيع, أشهر). و تستخدم هذه الميزة في الكشف عن حوادث الاغتصاب و الاعتداءات على الاطفال حيث يتم فيها التأخر في تقديم الشكوى (رجل 52 سنة اتهم بالاعتداء على ثلاثة اطفال بعد اعطاؤهم عقار دون علمهم. كان تحليل الدم و البول سلبيا و لدى اجراء تحليل الشعر كشف عن وجود ال Flunitrazepam في الحالات الثلاثة مما أكد على أنهم كانوا

ضحايا اعتداء). كما تفيد في تأكيد او نفي ادعاء (بيير 41 سنة مسؤول عن حادث تسبب في قتل اشخاص و قام بالهروب. تم القبض عليه بعد مرور شهرين من حدوث الواقعة. ادعى أنه كان متناول لل zolpidem و هو الذي تسبب بالحادث. لدى اجراء تحليل الشعر لم يكشف عن هذا المركب مما يدل على كذب ادعائه)

المبدأ الذي يتم بموجبه اختيار العينة:

المعلومات التي يتم جمعها من التحاليل السمية الشرعية تختلف من عينة الى اخرى, لذلك من الضروري احيانا اجراء التحليل لعينات مختلفة. إن خيار العينة يعتمد على الزمن الفاصل بين تناول العقار و أخذ العينة:

- في حال لم يمر 24 ساعة على استهلاك العقار, تكون عينة الدم هي المفيدة في هذه الحالة (لا أهمية لعينة البول و الشعر)
- في حال مرور اكثر من 24 ساعة, تفقد عينة الدم أهميتها و يكون بالامكان التحري عن المركب في البول فقط (نافذة التحري أيام)
- في حال مرور شهر أو أكثر تبقى عينة الشعر هي الدليل الوحيد من بين العينات الاجبارية الذي يحدد استهلاك العقار.

إضافة لهذه العينات الاجبارية يمكن التحري عن العقار بالاعتماد على حركيته السمية: على سبيل المثال يمكن التحري عن الكحول الاتيلي في هواء الزفير (يطرح مع الزفير) و الكشف عن وجود الزرنيخ في الكبد (يتراكم في الكبد) كما يمكن التحري عن التسمم ب CO في الرئة (العضو المستهدف).

Parameter	Urine	Blood	Hair	Saliva
detection	2-3 days	hours	Month, year	Hours
Type of measure	incremental	incremental	cumulative	Incremental
Conservation	-20 C	-20 C	Room temperature	-20 C
Major analyse	metabolite	Substance or metabolite	substance	Substance
concentration	high	low	low	Low

5-3الخلط الزجاجي Vitreous Humor

تلعب عينة الخلط الزجاجي دورا هاما مساعد في حل العديد من القضايا المتعلقة بالفحص مابعد الوفاة. لذلك من المفيد جمعها في جميع الحالات كون هذه العينة تكون محمية داخل العين و اقل وسط عرضة للتلوث و التخرب البكتيري. يتم الاستناد عليها بشكل رئيسي عند التحري عن الكحول و للتمييز فيما اذا الكحول ناجم عن تناول مسبق للكحول قبل الوفاة ام ان الكحول ناجم عن التخمرات مابعد الوفاة حيث ان تحليل عينة الخلط الزجاجي يعتبر الفرصة الوحيدة لتحديد تراكيز الكحول ماقبل الوفاة. يتواجد فترة يتم خلالها انتقال العقاقير و الكحول الى الخلط الزجاجي و فترة يتم فيها اطراح تلك المركبات من ذلك الوسط.

يمكن ملاحظة ان تراكيز العقاقير في الخلط الزجاجي تعكس التراكيز المتواجدة في الدم و ذلك بعد 1 الى 2 ساعتين من حدوث الوفاة حيث ان اي عقار يكشف عنه في الدم يمكن الكشف عنه في عينة الخلط الزجاجي. يعد هذا الوسط العينة الأفضل للتحري عن تراكيز الديجوكسين مابعد الوفاة اضافة الى تحليل الدم الفخذي و التي تزود بمعلومات تفيد في تفسير تسمم حاصل بالديجوكسين مابعد الوفاة. لا تتواجد في الخلط الزجاجي انزيمات الاستراز التي تعمل عل حلمهة بعض العقاقير و مستقلباتها في الدم مما يجعلها عينة الخيار الأول للتحري عن الهيروئين و 6 استيل مورفين (مستقلب الهيروئين). يمتاز هذا الأخير بأنه سريع الحلمهة في الدم لدى البشر in vivo و في المخبر in vitro و خاصة في حال عدم اضافة فلور الصوديوم. لدى حلمهته يعطي المورفين في الدم مما يجعل عملية تفسير النتائج صعبة في تحديد المركب لذلك تعتبر عينة الخلط الزجاجي مفيدة في معرفة اذا كان الموت الحاصل تم نتيجة لاستخدام الهيروئين.

يوجد اهمية خاصة لعينة الخلط الزجاجي في التحري عن الغلوكوز, البولة, حمض البول, الكرياتينين, الصوديوم و الكلور. ان قياس هذه المركبات مفيد في تشخيص السكري و التوازن الشاردي و وظائف الكلية قبل حدوث الوفاة.

5-3 الانسجة Tissuses:

ان الأنسجة الشائع جمعها لتحاليل ما بعد الوفاة تتضمن الكبد, الكلية, الدماغ, الرئة و الطحال. تعتبر هذه الأنسجة الأكثر فائدة و التي بإمكانها تقديم معلومات تساعد في تفسير نتائج تحليل الدم. و يمكن أن تكون العينات الوحيدة المتوفرة في الجثث المتفسخة اضافة للشعر. ان الكمية الأكبر من المعطيات عن تواجد العقار يمكن الحصول عليها بالدرجة الأولى في الكبد و الكلية و بدرجة اقل في الدماغ و الرئة. غالبا ما تتم المقارنة بين نتائج تحليل الدم القلبي و بين نتائج تحليل الكبد (الموقع الذي تتم فيه عملية استقلاب العديد من العقاقير). على سبيل المثال في الحالات التي تكون فيها تراكيز المركبات الام في الدم عالية وتفوق معدلات تركيز العقار في الكبد بالنسبة لتركيز العقار في الدم القيمة 10 فهذا دليل قوي على ان العقار هو المسبب في الوفاة في حال عدم تواجد اسباب اخرى. في حين اذا كانت تلك المعدلات اقل فإن تواجد تراكيز عالية من الدم القلبي تشير الى احتمال كبير لحدوث اعادة التوزع مابعد الوفاة للعقاقير الى الدم.

في بعض الحالات يعتبر تحليل الانسجة اكثر ملائمة و اهمية من عينات السوائل الحيوية لدى التحري عن بعض المركبات. في حالات التسمم بالمعادن الثقيلة تعتبر عينة الكلية مفيدة جدا حيث تتركز فيها. ان الأذية البنيوية في نسيج الكلية و التي تعود للمعادن الثقيلة و الاتيلين غليكول يمكن الاستدلال اليها من خلال الدراسات النسيجية.

يمتاز الطحال بأنه غني بالدم و هو مفيد في تحليل المركبات التي ترتبط مع الهيموغلوبين مثل اول اكسيد الكربون و هو العينة المفيدة الوحيدة المتوفرة للتحليل في حالات الموت بالاحتراق حيث يكون هناك تأذي كبير بالجثة.

اما نسيج الرئة فله أهمية خاصة في حال الشك باستنشاق المركبات الطيارة كالمحلات . في حال الشك بالتعرض عن مركبات محبة للدسم مثل المركبات الهيدروكربونية المكلورة او المركبات الطيارة العضوية الاخرى يتم الجوء الى تحليل الدماغ نظرا لمحتواه العالي من الدسم حيث تميل المركبات المحبة للدسم للتراكم فيه. ايضا ان معدل تواجد الكوكائين في الدماغ الى تواجده في الدم يستخدم كدليل على ان الوفاة تمت بسبب الكوكائين و ذلك في حال كان عاليا لذلك الوفيات التي تتم بسبب الكوكائين يستخدم فيها الدم و الدماغ للتفسير. و بما ان الدماغ يعتبر من الاعضاء المحمية فهو الأكثر مقاومة لعمليات التفسخ مابعد الوفاة.

إن عملية تحليل الانسجة تتم من خلال الوزن حيث يؤخذ 1 الى 5 غ من النسيج و يتم تقطيعه و مجانسته مع 4 اجزاء من الماء لتشكيل عامل انحلال من 5. يتم الحصول على العينة من خلال حفر النسيج بعد تجميده باستخدام اداة معدنية تدعى cork-borer حيث يتم من خلاله اخراج جزء من النسيج المتجمد ووزنه. تعتبر هذه الطريقة الاسهل و الاكثر دقة من اخذ عينة من النسيج الرطب و يساهم في التخفيف من الرائحة الكريهة عند التعامل مع العينات المتفسخة.

.

.