

# العينات المستخدمة للتحاليل الشرعية



**Dr Samar Alzeer**

د. سمر الزبير

# CHAIN OF CUSTODY

## Chain Of Custody Record

To: Georges Chem Lab      Contact: George  
 1 George St                      Telephone: 555-555-6535  
 Suite 210  
 George Town

Samples Sent From: George George / B01111

Send Results To: George George / B01111

Comments: LAB 100 U D 1000000

Project No.: 100

Name	SW. ID	Box#	ID	Date	Program Name	SW Size	Req. Analysis
SW 1-1	26	03	11-1-03	11-1-03	USWB Program	11 pages Byte 16	Case Of Crime
SW 1-1	26	05	11-1-03	11-1-03	USWB Program	1256 1 page Byte 16	File 11
SW 1-2	27	07	11-1-03	11-1-03	USWB Program	1256 1 page Byte 16	File 11

Sample Custody	From	To	Date	Time

د. بسام الزبير

# عينات قبل الوفاة Ante-mortem

الشعر



البول



الدم



العرق



اللعاب

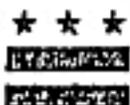


براز الأطفال  
حديثي الولادة  
**Meconium**

# عينات بعد الوفاة Post-mortem



GOVERNMENT OF THE DISTRICT OF COLUMBIA  
OFFICE OF THE CHIEF MEDICAL EXAMINER



1910 Massachusetts Avenue, S.E., Bldg. 27  
Washington, D.C. 20003  
Telephone: 202-698-9059 Fax: 202-698-9104

TOXICOLOGY REPORT     SUPPLEMENTAL

CASE IDENTIFICATION

Toxicology Number    TX10-1234  
Name:                    MOHAMMED, Ali Ahmed  
Report Date:            11/8/2010  
Agency Name:          OCME  
Agency Number:        10-02311  
Medical Examiner:      Lois R. Goslinoski, M.D.

SPECIMEN(S) RECEIVED

Item	Sample	Date Received
1	Femoral - Blood	10/18/2010
2	Femoral - Blood	10/18/2010
3	Heart - Blood	10/18/2010
4	Heart - Blood	10/18/2010
5	Urine	10/18/2010
6	Bile	10/18/2010
7	Vitreous Humor	10/18/2010
8	Liver	10/18/2010
9	Brain	10/18/2010
10	Gastric Contents	10/18/2010

RESULTS

Item	Sample	Compound	Method 1	Method 2	Value	Units	Comments
2	Femoral - Blood	Ethanol	HS/GC-1	HS/GC-2	0.20	g/100mL	
7	Vitreous Humor	Ethanol		HS/GC-2	0.22	g/100mL	

RESOLVED PANEL RESULTS

د. بسيم  
الذبيير

# اختيار العينات Sample Selection

سهولة التحليل

سهولة جمع العينة

وجود ملوثات

تأثير الماتريكس Matrix effects

وقت التحري

ثبات العقار ضمن العينة

تعفن العينة

القدرة على إجراء التحاليل بشكل أوماتيكي

حجم العينة

الدلالة على استخدام قصير أو مديد للعقار

وجود بيانات مرجعية للمقارنة معها

وجود قيم لتفسير النتائج

د. بسمة

الذبيح

# Sample Collection جمع العينات



## ➤ العبوات الزجاجية:

- مادة خاملة , عدم وجود ملوثات , حجم أكبر
- تراكيز العقار المتوقعة أقل من  $10 \mu\text{g/L}$
- يفضل في حالة الشك بوجود غازات , مواد طيارة , عينات بعد الوفاة السائلة
- مشكلة الكسر , زيادة تراكيز العناصر الزهيدة , ادمصاص المواد العضوية



## ➤ العبوات البلاستيكية :

- مناسبة للعينات الصلبة والمحتوى المعدي
- عبوات بلاستيكية مصممة خصوصاً للسوائل البيولوجية
- الانتباه لنوع البلاستيك : polystyrene يتصدع بالتجميد
- polypropylene لا يتصدع بالتجميد
- مشكلة الادمصاص



# جمع العينات

- الحجم المفضل لعينات الدم والبول عبوات 50 مل
- تقليص حجم الفراغ فوق العينة
- عبوات حفظ للدم تحتوي مسبقاً على مادة حافظة أو مضادة للتخثر
- تحليل روتيني لعينات سلبية محفوظة لفترات طويلة
- الانتباه للتخرب الضوئي . مثال LSD  
benzodiazepines (Clunazepam, flurazepam, nitrazepam)
- أهم شئ تمييز العينات باللصاقات Sample labelling

# حجم العينات

عينات بعد الوفاة Postmortem		عينات قبل الوفاة Antemortem	
الكمية	العينة	الكمية	العينة
25 ml	الدم القلبي	10-20 ml	الدم
10-20 ml	الدم المحيطي	25-100 ml	البول
كامل العينة	البول/ الصفراء	5-30 ml	السائل الأمينوسي
كامل العينة	الخلط الزجاجي	10-20 ml	حليب الثدي
كامل العينة	السائل النخاعي الشوكي CSF	كامل العينة	العقي (براز الأطفال حديثي الولادة)
بسماكة قلم > 50 g	الشعر	بسماكة قلم	الشعر
50 g	الكبد/ الكلية/ الدماغ / الطحال/ الرئة	1-5 ml	اللغاب/ العرق

# عينة الدم

## مميزات عينة الدم قبل الوفاة

- الاستخدام الحديث للعقار : ساعات/ أيام
- التراكيز ذات علاقة بالتأثيرات الفيزيولوجية للعقار
- ليس من السهل التلاعب بها
- وجود الكثير من المعلومات المرجعية

## سوءات عينة الدم قبل الوفاة

- نافذة تحري قصيرة
- تجمع من قبل خبير



# عينة الدم

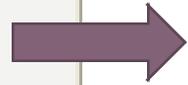


- **الحفظ :** بدرجة  $4\text{ C}^\circ$  للحفظ قصير الأمد  
بدرجة  $-20\text{ C}^\circ$  للحفظ طويل الأمد وتحاليل التأكيد  
يمنع النمو الجرثومي
- **مواد حافظة :** فلوريد الصوديوم **2% W/V** لعينات الدم
- تمنع الفعاليات الأنزيمية : تحويل الغلوكوز إلى إيتانول , أكسدة الإيتانول , أسترة الكوكائين , فقدان الأسترات مثل 6 أستيل مورفين  
عينتين محفوظة وغير محفوظة
- **مواد مضادة للتخثر :** أوكزالات البوتاسيم , سترات الصوديوم , EDTA,  
5 mg/ml
- قد تتداخل مع التحليل اذا كان حجم العينة صغير.



د. بسمة الزبير

Classification*	Items	Additive	Color▲	Tube Materialr	Main Intended Use	Basic Tube size (mm)
Serum Tube	No Additive Tube	/	Red	Glass	Determinations in serum for clinical biochemistry, immunology, and serology	Φ13×75/100 Φ16×100/125
	Pro-coagulation Tube	Clot Activator	Orange	Glass/Plastic		
	Gel&Clot Activator Tube	Gel & Activator	Yellow	Glass/Plastic		
Plasma Tube	Glucose Tube	Potassium oxalate/Sodium fluoride or EDTA /Sodium fluoride	Grey	Glass/Plastic	Determinations in stabilized anti-coagulated whole blood or plasma for glucose and lactate testing	Φ13×75/100
	PT Tube	0.109mol/L Sodium Citrate 0.129mol/L Sodium Citrate ( 1:9 )	Blue	Glass/Plastic	Determinations in citrated plasma for coagulation testing	Φ13×75/100
	Heparin Tube	Lithium Heparin, Sodium Heparin	Green	Glass/Plastic	Determinations in heparinised plasma for clinical chemistry	Φ13×75/100 Φ16×100
Whole Blood Tube	EDTA Tube	EDTA.K2 EDTA.K3	Purple	Glass/Plastic	Determinations in EDTA whole blood for hematology	Φ13×75/100
	ESR Tube	0.109mol/L Sodium Citrate ( 1:4 )	Black	Glass Plastic	blood cell sedimentation rate test	Φ9×120 Φ13×75 Φ13×75



د. بسمة

# عينة الدم بعد الوفاة

دم القلب (الأيمن) : 50 مل

الدم المحيطي (الفخذي) : 10 مل

❖ تنخفض pH الدم بعد الوفاة. يحتوي 60-90% من الماء

❖ الدم كاملاً أفضل من البلازما أو المصل

❖ إمكانية حدوث انحلال دم haemolysis

❖ وجود الهيماتين Hematin

❖ Post-Mortem redistribution

❖ حساب نسبة الدواء الرئيسي إلى المستقبلات: تسمم حاد

# عينة البول

- حالات الكشف عن المنشطات , برامج التحاليل الدورية للمدمنين
- تؤخذ عادة من الشخص اذا كان واعيا , بالقطرة اذا كان الشخص فاقدًا لوعيه أو بإدخال ابرة في المثانة في حالة الوفاة .
- يفضل أخذ 100 مل على الأقل .
- يسجل اللون , الرائحة , الكثافة , ودرجة الحموضة pH
- **نافذة التحري** : أطول من الدم ,
- غالبا " يكون تركيز المركب الرئيسي ضئيلا " جدا " بينما تراكيز مستقلباته مرتفعا "

# عينة البول في الفحوص الدورية

يمكن غش عينة البول

■ تمديد العينة

■ إضافة مواد مؤكسدة مثل النترات

■ إضافة مواد معدلة لدرجة pH

■ معرفة إطراح المواد



pH = 4.5-8

# عينة البول بعد الوفاة

تراكيز المستقلبات كبيرة



وجود فترة زمنية بين التناول  
والاعتيان

تراكيز المركب الأساسي ضئيلة في البول  
مع تراكيز عالية في الدم



الوفاة سريعة بعد التناول

# عينة الشعر Hair

❖ التسمم الحاد , التسمم المزمن , تاريخ التعاطي



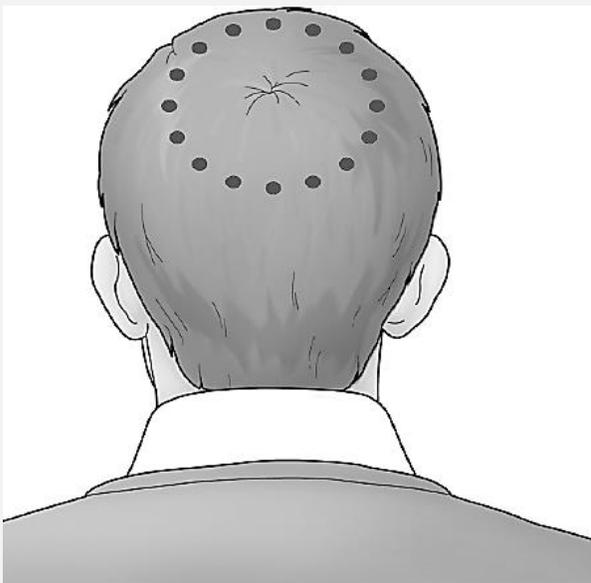
## الميزات

- متوافر , الحفظ في درجة حرارة الغرفة
- يمكن التحليل بعد سنوات
- نافذة التحري طويلة : أسابيع إلى أشهر

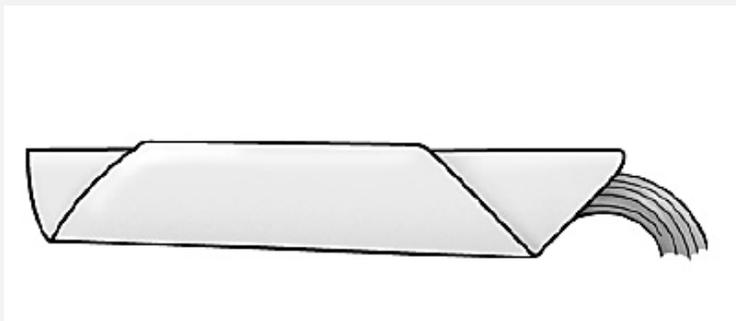
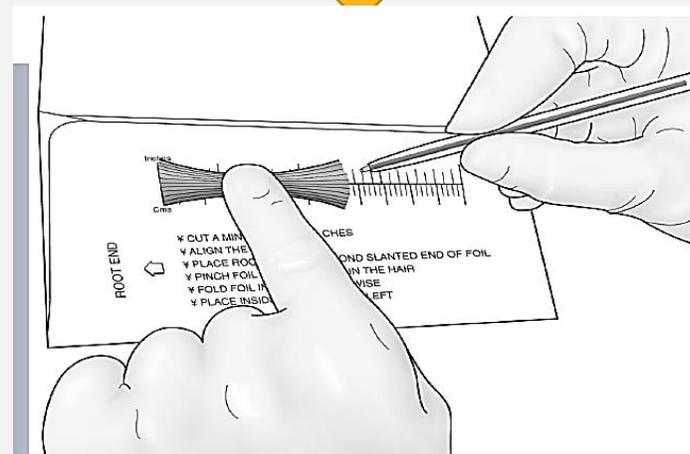
## المساوئ

- التلوث الخارجي
- الكمية الكبيرة
- التراكيز الضئيلة جداً ← وسائل تحليل حساسة ومكلفة

# الشعر



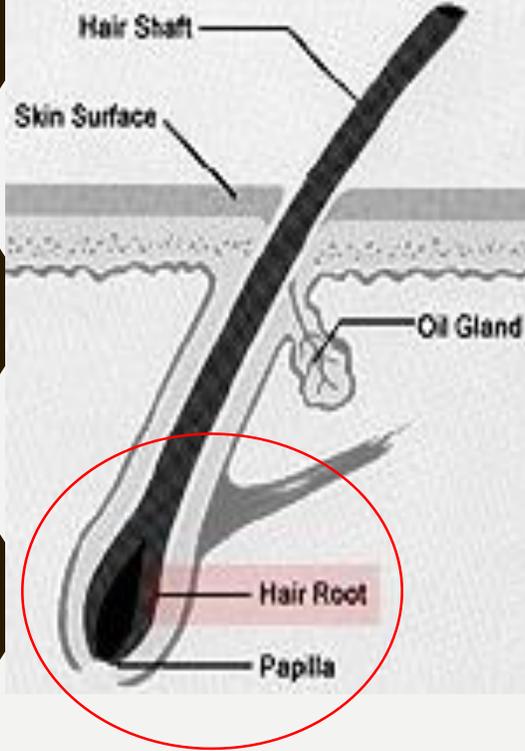
4 أسابيع بعد حصول التعاطي



ب. شعر

الزئير

# عينة الشعر



القلوية

الانحلال  
في الدسم

الميلانين

❖ شعر العانة أو شعر الإبط يمكن تحليله

❖ شعر اللحية غير مرغوب لتلوثه باللعاب

❖ المركب الأساسي «« المستقلبات

❖ الهيرويين والكوكائين ومشتقات الأمفيتامين والبنزوديازيبينات وغيرها, بالإضافة إلى المعادن الثقيلة

# عينة الأظافر Nails

- تؤخذ في حال عدم توافر الشعر
- 100 -150 mg
- الأظافر كالشعر يبقى الدواء فيها ثابت لفترة طويلة / يتواجد بعد الوفاة
- الحفظ ضمن درجة حرارة الغرفة
- Arsenic / cannabinoids / opiates / cocaine/  
phencyclidine / benzodiazepines / methadone
- معدل نمو ظفر اليد 3 mm/month وظفر القدم 1 mm/ month
- يتأثر النمو بالعمر / سوء التغذية / البرد / الأمراض الجلدية /

# عينة الأظافر Nails



## Mee Lines •

❖ خط أبيض على الظفر

❖ أمراض أو تسمم

❖ التسمم بالزرنيخ / التالسيوم / أول أكسيد الكربون

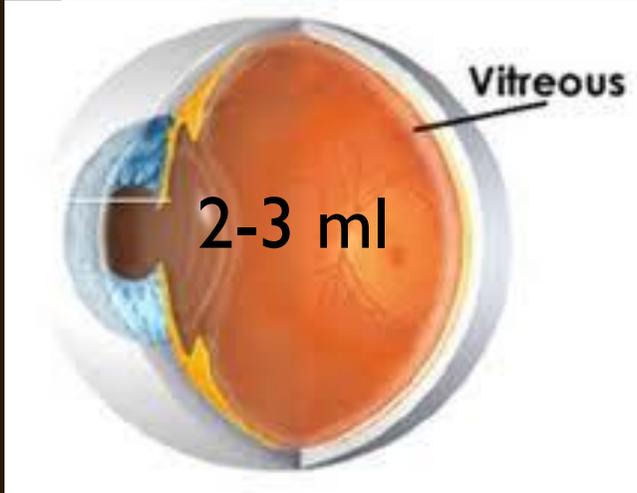


## Azure lunula •

❖ Argyria

❖ التعرض لأملاح الفضة / مرض رينو / مرض ويلسون

# عينة الخلط الزجاجي Vitreous humour



## الميزات

وسط  
عقيم

وسط  
معزول

يقاوم التفسخ لمدة أطول

لا يحدث إعادة توزع بعد الوفاة

■ وجود حجرة محيطية : بقاء الامتصاص والإطراح

■ الأدوية غير المرتبطة free drugs

## المساوئ

■ حجم العينة قليل (2-3 ml)

# عينة الخلط الزجاجي

## Vitreous humour

لا ينتج بالتخمر بعد الوفاة

الإيتانول

6 أستيل مورفين لا يحتوي هيدرولاز

الهيروئين

■ الديجوكسين , الساليسلات , الأسبرين

glucose, urea, nitrogen, uric acid, creatinine, sodium and chloride

■ بعض الدراسات : تراكيز الخلط الزجاجي متناسبة مع تراكيز الدم قبل 1-2 من الوفاة

■ يضاف فلوريد الصوديوم في حالة التحاليل الشرعية وليس التحاليل السريرية

# عينة اللعاب Oral fluid



□ يفرز من 3 غدد . محتوى ضئيل من البروتين

- Passive diffusion : المواد عالية الانحلال بالدم
- Ultrafiltration : المواد القطبية الصغيرة
- Active transport : الشوارد والبروتينات

## الميزات

- عينة متوفرة سهلة الجمع حتى في مكان الحدث
- من الصعب غشها
- التحري عن العقاقير بعد فترة قصيرة من التناول

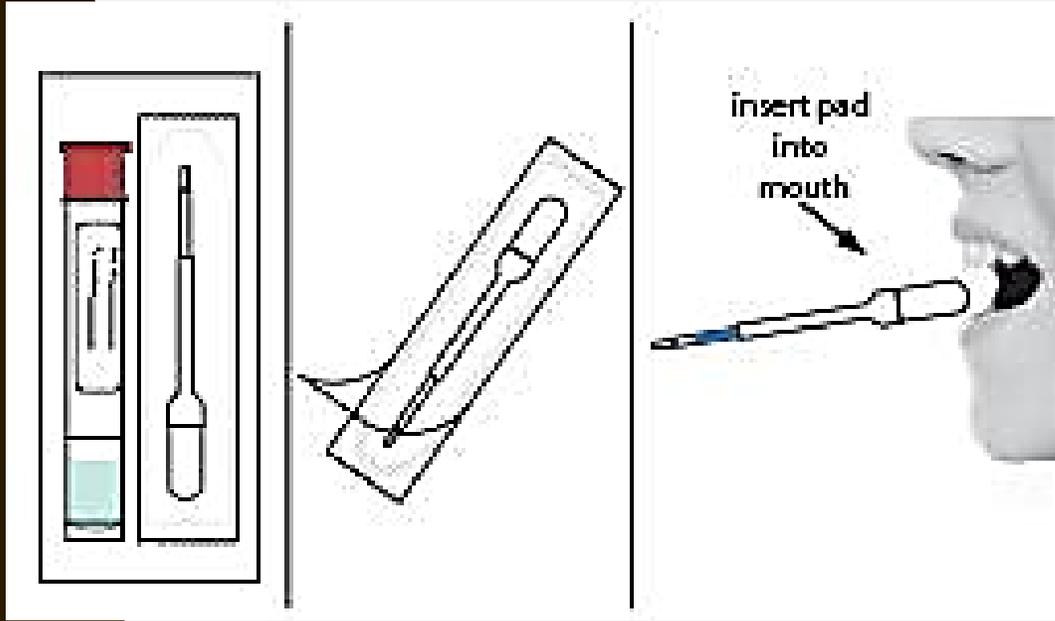
## المساوئ

- نافذة التحري قصيرة
- الحاجة إلى تحريض الإفراز في بعض الحالات
- تأثير أداة الجمع على التراكيز

pH = 5.6-7.9

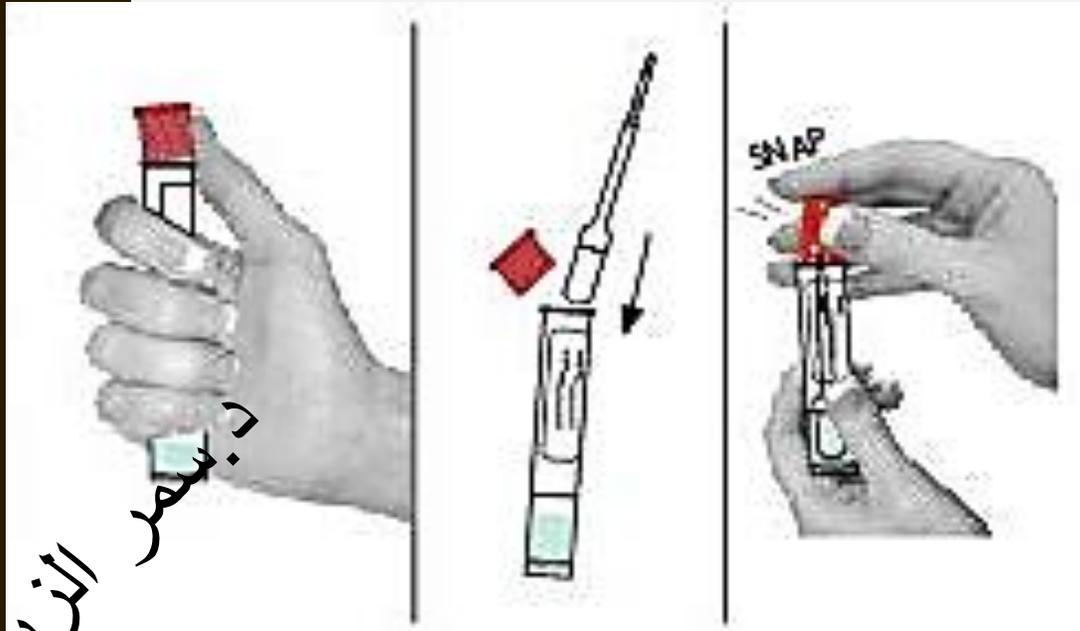
د. سمر الزبير

# عينة اللعاب Oral fluid



□ تراكيز الأدوية الحمضية أقل في اللعاب من الدم

□ تراكيز الأدوية القلوية أكثر في اللعاب من الدم



□ تستعمل بنجاح للتحري عن الإيتانول,

الأفيونات, الكوكائين, الميتادون

□ Work place drug testing , حوادث السير

## Sweat Patches



# عينة العرق Sweat

### الميزات

الفحوص الدورية لأيام متواصلة حتى 14 يوم  
كلفة منخفضة , سهولة الجمع  
التعرض طويل الأمد

### المساوئ

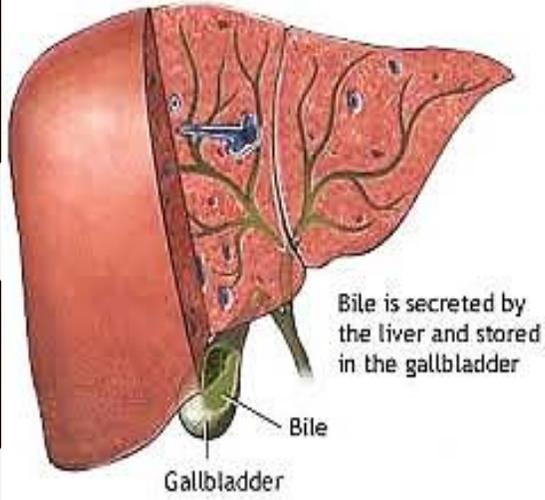
التراكيز المنخفضة  
التلوث الخارجي (بشرة , نسيج شحمية , أبخرة)  
اختلاف التراكيز حسب مكان الجمع

■ تركيب العرق يشبه البلازما (بروتين Dermcidin)

■ 300-700 ml باليوم

■ الكوكائين والكودئين

# عينة الصفراء Bile



15 ml

➤ تجمع قبل عينة الكبد لتجنب التلوث

➤ chronic drug use history

➤ الكحول

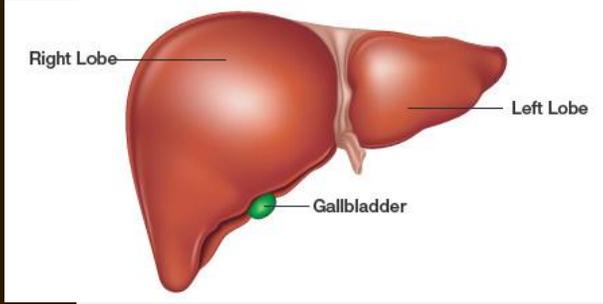
➤ العقاقير المقترنة : الأفيونات خصوصاً المورفين , والبنزوديازيبينات

➤ تراكيز الصفراء « تراكيز الدم

➤ مشكلة صعوبة الاستخلاص بسبب أملاح الصفراء والدهن

المساوي

# عينه الكبد Liver



## الميزات

- كبر حجم العينه وسهولة الجمع والتحليل
- توفر الكثير من المعلومات عن التراكم في الكبد
- الفص الأيمن right lobe قليل التعرض ل post-mortem redistribution

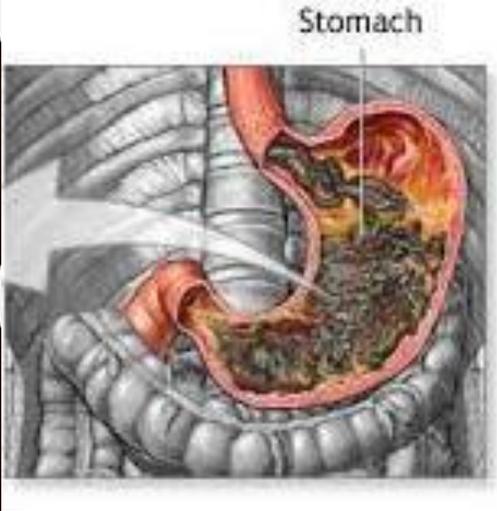
1-5 g

## المساوي

- احتواءها على الدهون : التعفن السريع
- التلوث بالمحتوى المعدي

تراكم العديد من الأدوية (كمضادات الاكتئاب ثلاثية الحلقة) أعلى في الكبد من الدم

# عينة المحتوى المعدي Gastric contents



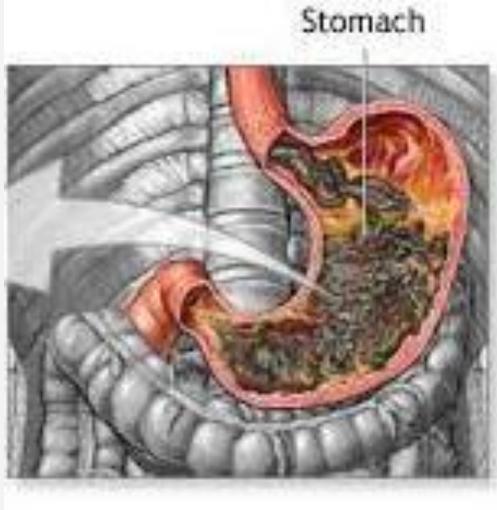
## الميزات

- التراكيز العالية في المعدة بعد وقت قصير من الابتلاع
- غير متأثر بالاستقلاب
- وجود رائحة معينة أو أدوات لإدخال السموم

- عدم التجانس : تحليل كامل العينة
- التلوث بالصفراء

## المساوئ

# عينة المحتوى المعدي Gastric contents



➤ محتوى المعدة , غسل المعدة , الإقياء

➤ قد تدل الرائحة على السم .

الثوم يدل على الزرنيخ والفوسفين

دهان الأحذية : النتروبنزن

➤ الحذر الشديد عند الشك بتناول السيانيد أو فوسفيد الألمنيوم أو أزيد الصوديوم ,

بسبب الغازات السامة

# عينة المحتوى المعدي Gastric contents

## الملاحظات

❖ وجود المركب الأساسي بكميات عالية ← ابتلاع فموي

❖ عدم وجود المركب الأساسي ← لا ينفي التناول الفموي

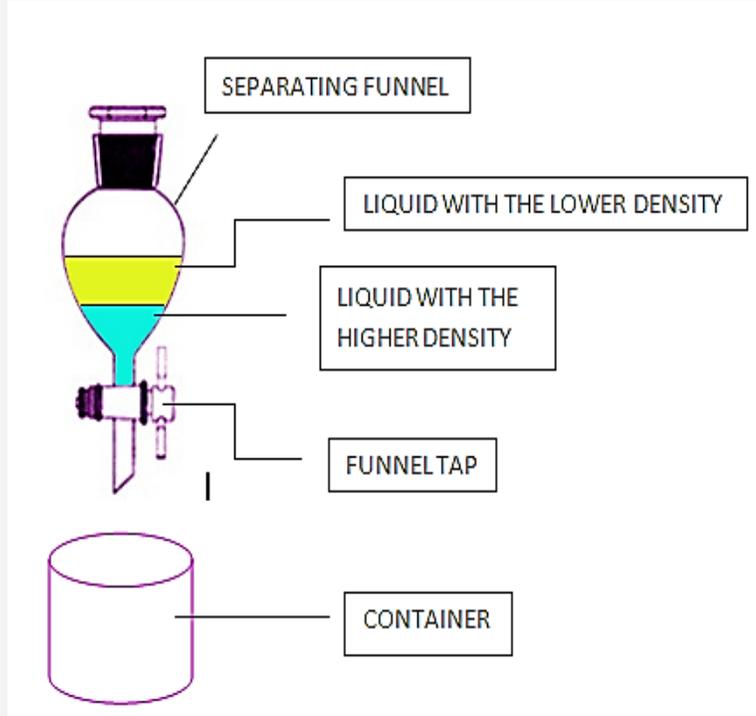
❖ وجود مستقلبات العقار ← انتقال من الدم (خاصة للمركبات القلوية المشحونة بسبب Ion trapping) ليس بالضرورة تناول فموي أو وجود المورفين بكميات كبيرة

# العقي (براز الأطفال حديثي الولادة) Meconium

- التعرض الجنيني للعقاقير
- نافذة التحري : 20 أسبوع قبل الولادة
- عينة معقدة وغير متجانسة
- اختلاف استقلاب الرضع عن الكبار
- إثبات تناول الكوكائين عند الأم

# تحضير العينات للتحليل

## Liquid-liquid extraction



**المحل العضوي** : جيد الاستخلاص , أقل كثافة من الماء , قليل الانحلال بالماء , خامل , قليل السمية والاشتعال , رخيص ومتوافر

تعدل PH ليتحول الدواء إلى شكله غير المتشرد وينتقل للمحل العضوي (غالبا) يعدل درجتين فوق أو تحت (Pka

Ethyl acetate ,Acetonitrile, dichloromethane, Hexane

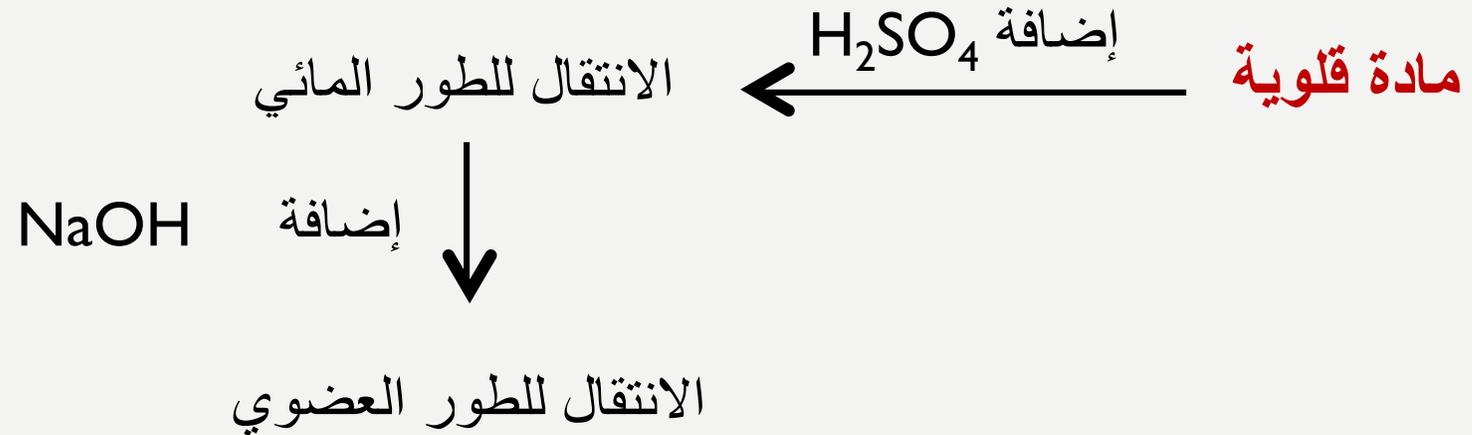
toluene, diethyl ether, chlorobutane,  
, chloroform

# تحضير العينات للتحليل

## Liquid-liquid extraction

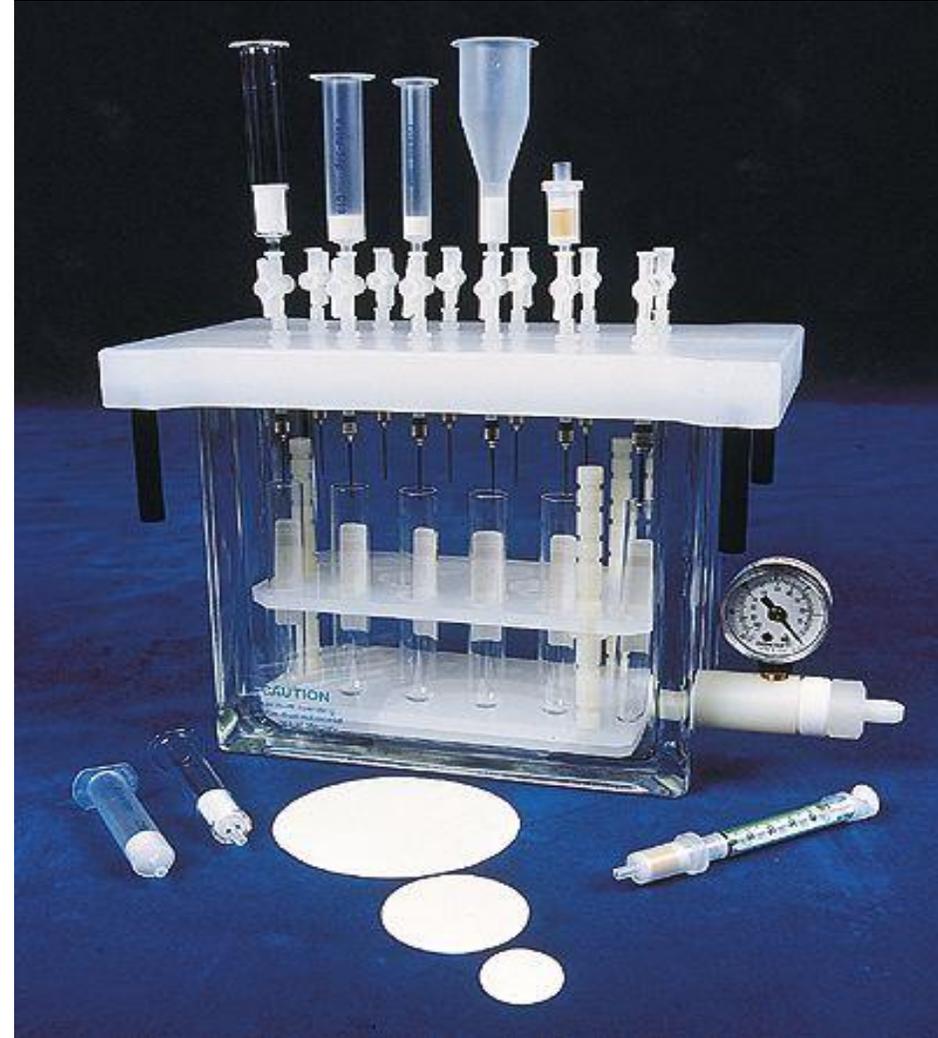
### الملاحظات

- استعمال المحلات الأقل قطبية (الهيدروكربونات) لمنع استخلاص مواد أخرى
- يزداد الاستخلاص بمزج السوائل العضوية
- لاستخلاص مواد شديدة الحموضة أو القلوية , يمكن تطبيق الاستخلاص الراجع



# Solid-Phase extraction (SPE)

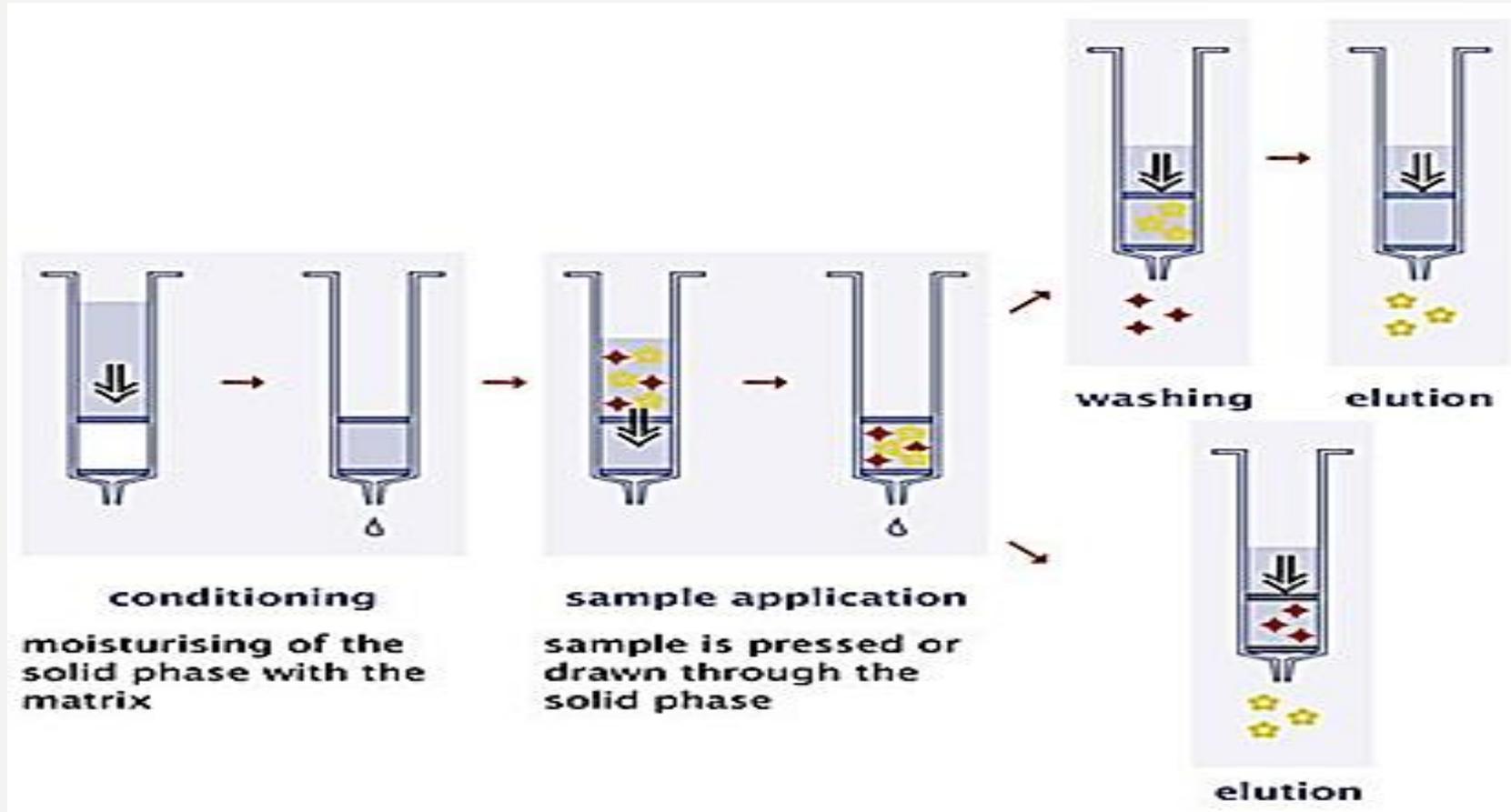
الاستخلاص بالطور الصلب



ديب سمر الزبير

# تحضير العينات للتحليل

## Solid phase extraction (SPE)



الميزات : فعالية فصل كبيرة , وقت قصير , حجم سوائل منخفض

# تحضير العينات للتحليل

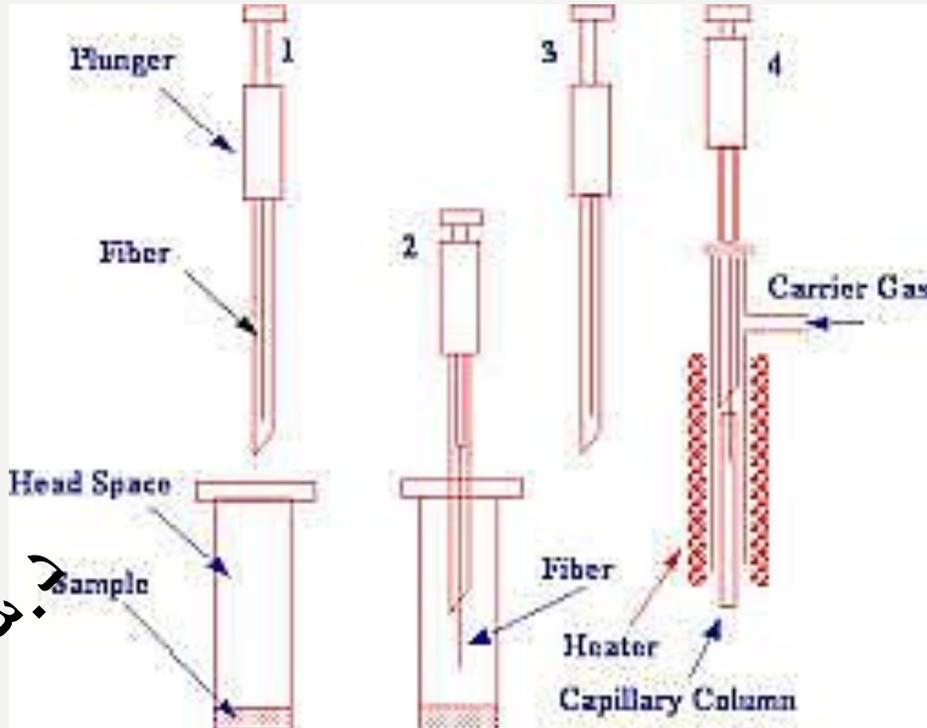


## Solid phase micro extraction (SPME)

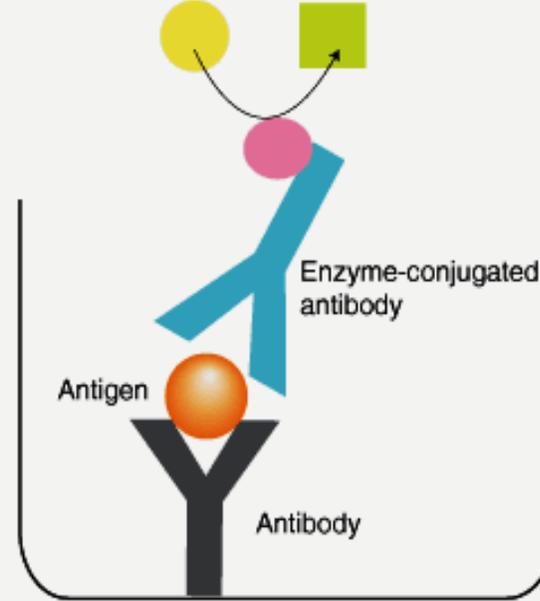
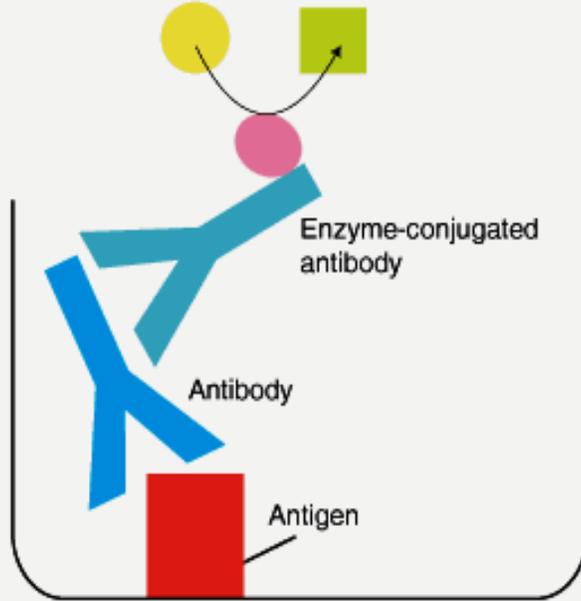
■ الميزات: بسيط , سريع , فعال , لا يحتاج محلات

يحتاج إلى تسخين

■ كل الخطوات مدموجة في خطوة واحدة



# طرائق الكشف Screening methods



**ELISA**

**Antibodies** ➤

**TLC**

**RF** ➤

**التفاعلات اللونية**

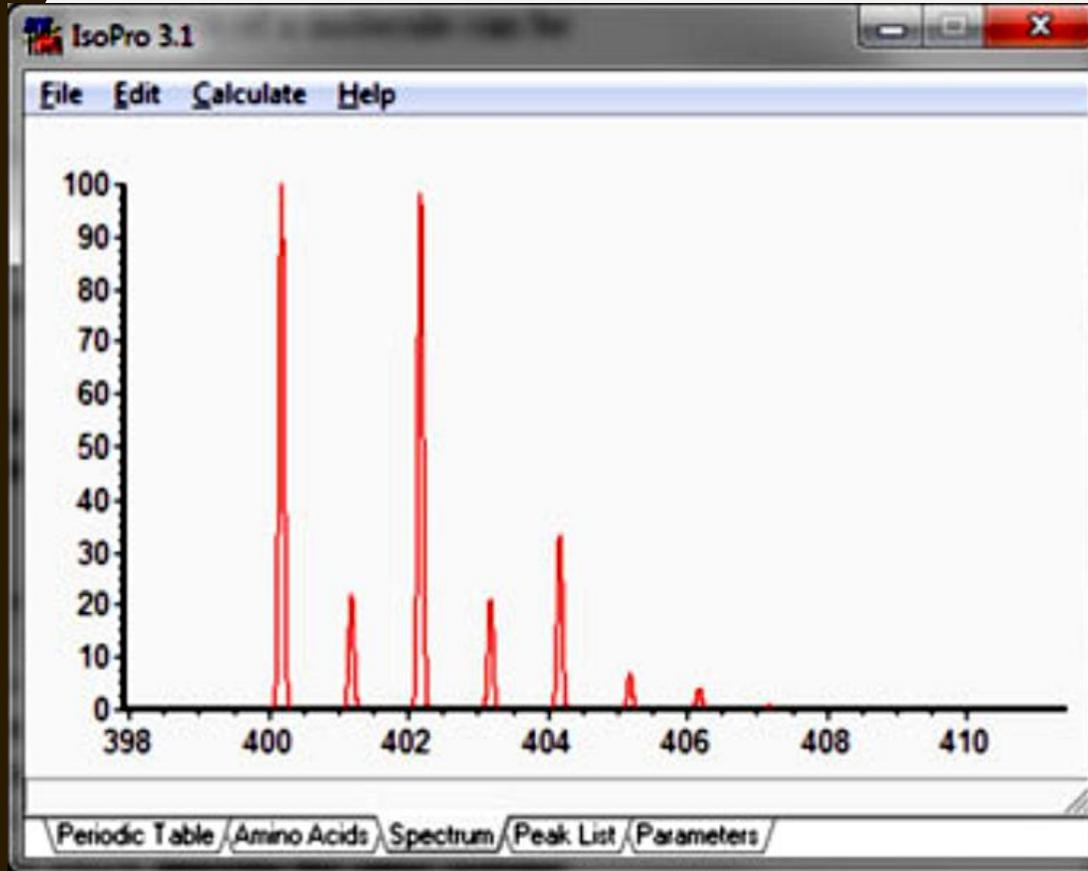
➤ تفاعل ماركي **Marquis Test** : الأمفيتامينات و الأفيونات  
محلول من حمض الكبريت المركز والفورم ألدهيد

# تحليل العينات

- الوسائل المقبولة في المحاكم هي الكروماتوغرافيا مثل GC/MS , LC/MS , HPLC للكميات الضئيلة جدا“ وسائل عالية الحساسية (MS/MS)
- تحضير سلسلة عيارية , استعمال Blank , تحضير 2-3 من نفس العينة وأخذ المتوسط الحسابي , استعمال عياريات
- التأكد من موثوقية الطريقة المستعملة (Validation):

<b>Linearity</b>	<b>LOD and LOQ</b>	<b>Recovery</b>
<b>Selectivity</b>	<b>Accuracy</b>	<b>Precision</b>

- التأكد من جاهزية جهاز التحليل ودقته على فترات متقاربة



IsoPro 3.1

File Edit Calculate Help

m/z	Abundance	Spread	Multiplicity
401.84471	0.999911	8.99851	52
400.17024	0.3490230	0.00000	1
401.17367	0.0758697	0.00282	3
402.16667	0.3440645	0.01339	5
403.16993	0.0735987	0.01337	8
404.16334	0.1159608	0.02393	7
405.16629	0.0240557	0.01336	8
406.16078	0.0142757	0.02392	7
407.16301	0.0027287	0.01336	7
408.16539	0.0003090	0.01054	4
409.16781	0.0000249	0.00245	2

Periodic Table / Amino Acids / Spectrum / Peak List / Parameters

د. سمر الزبير

