

BRIEF LITERATURE REVIEW SUMMARY

Gonashvili Meri, Kilasonia Besarion, Chikhladze Ramaz,
Merabishvili Gela, Beriashvili Rusudan

FORENSIC MEDICAL AND FORENSIC ANTHROPOLOGICAL ASPECTS OF ANTEMORTEM ORIGIN ESTIMATION OF BONE FRACTURES - REVIEW

TSMU, DEPARTMENT OF FORENSIC MEDICINE

This review focuses on the critical problem of distinguishing between antemortem and postmortem fractures in forensic medicine and forensic anthropology, with an emphasis on understanding the role of taphonomy in complicating these determinations. By evaluation the application of morphological, histological, and radiological techniques, this article discusses strategies to navigate these challenges, particularly in cases of deaths which are associated with suspected physical abuse. The importance of advanced forensic methodologies and a multidisciplinary approach to effectively interpret taphonomic effects and contribute to legal investigations is highlighted. The review emphasizes the necessity of employing highly precise methods for establishing the vitality of fractures, which is central in investigating cases of physical abuse.

გოცირიძე დავით², ბარამიძე ქეთევან¹,
ჩიკვილაძე თამარ², ოთარაშვილი თამარ²

მყარფაზიანი სვეტის მოდიფიცირება ფრინველის სორციდან ექსტრაგირებული ნიტროფურანის მეტაბოლიტების გასუფთავებისთვის

"გლობალტასის" საგამოცდო ლაბორატორია¹,
თსსუ, ფარმაცევტული და ტოქსიკოლოგიური
ქიმიის დეპარტამენტი²

ნიტროფურანის ნაწარმი ანტიბიოტიკების ვეტერინარიაში გამოყენება ბევრ ქვეყანაში აკრძალულია, მათ შორის - ევროკავშირშიც, მათი კანცეროგენული, ტერატოგენული და მუტაგენური ეფექტების გამო [1]. ევროკავშირის მოთხოვნების გათვალისწინებით, ნიტროფურანების ვეტერინარიაში გამოყენება საქართველოშიც რეგულირდება [2].

თუმცა, მათი დაბალი ღირებულების და მნიშვნელოვანი ეფექტურობის გამო, ნიტროფურანები, როგორც ვეტერინარული პრეპარატები, ნებადართულია ან არაღებულად გამოიყენება ზოგიერთ განვითარებად ქვეყანაში [3].

მიღებიდან რამდენიმე საათში ნიტროფურანები სწრაფად მეტაბოლიზდება და ნარჩენი მეტაბოლიტები, ცილებთან შეკავშირებული სახით, ორგანიზმში

შეიძლება დარჩეს კვირების და შესაძლოა, თვეების განმავლობაში [4].

ნიტროფურანის მეტაბოლიტების განსაზღვრის სირთულე მდგომარეობს მათ მაღალ ჰიდროფილურობასა და მატრიცებთან შეკავშირებულ ფორმებში, რაც მოითხოვს საანალიზო ნიმუშის მომზადების ზუსტი და ეფექტური მეთოდების შემუშავებას.

მრავალი წლის განმავლობაში სითხე-სითხე ექსტრაქცია, ცენტრიფუგირება და თხელფენოვანი ქრომატოგრაფია იყო საკვლევი ნიტროფურანების ნიმუშიდან იზოლირების, განმენდის და კონცენტრირების ძირითადი მეთოდები. ნიმუშის ასეთი მომზადება ხანგრძლივი და მრავალსაფეხურიანი პროცესია, რომელიც მოითხოვს დიდი რაოდენობით მაღალი სინმინდის გამხსნელების და რეაქტივების მოხმარებას, დამატებით ალჭურვილობას და შრომით დანახარჯებს.

სითხე-სითხე ექსტრაქციის კარგი ალტერნატივაა მყარფაზიანი ექსტრაგირება-გასუფთავება. დიდი მოცულობის ნიმუშების დამუშავება შესაძლებელია შედარებით მცირე რაოდენობის მყარი სორბენტების გამოყენებით, რაც, თავის მხრივ, მოითხოვს გამხსნელების მცირე მოცულობას კონცენტრირებული ნაერთების შემდგომი დეზორბციისთვის. შესაბამისად, არ არის საჭირო დამატებითი აორთქლება და მნიშვნელოვნად მცირდება ნიმუშის დაბინძურების რისკი.

მყარფაზიანი ექსტრაგირება ხასიათდება სორბენტთან და ელუენტთან სინჯის ურთიერთქმედების ბუნების და სიმტკიცის ცვალებადობის უფრო ფართო შესაძლებლობით, ვიდრე სითხე-სითხე ექსტრაქცია. შესაბამისად, ხდება საკვლევი ნივთიერებების უფრო შერჩევითი და რაოდენობრივი იზოლირება და განმენდა.

ნიმუშის განმენდას დიდი მნიშვნელობა აქვს მეთოდის მგრძნობელობის ასამაღლებლად, თუმცა, არის ძვირადღირებული მეთოდი, ქრომატომასსპექტრომეტრია, როცა ანალიზი განმენდის გარეშე ტარდება [5], იშვიათ შემთხვევებში გამოიყენება თხევადი განმენდები [6].

ყველაზე ხშირად მყარი ფაზით განმენდის დროს გამოიყენება სხვადასხვა ძვირადღირებული სვეტი, სადაც სორბენტად გამოყენებულია პოლიმერები. არსებობს მონაცემები პოლისტიროლის და დივინილბენზოლის პოლიმერის, როგორც სორბენტის გამოყენების შესახებაც [7].

თანამედროვე მდგომარეობით, კომერციულად ხელმისაწვდომი მზა სვეტები, რომლებიც გამოიყენება ნიმუშების გასანმენდად, ძვირია, არ აღდგება და, შესაბამისად, ერთჯერადია; კომერციული მიზნების მათი გამოყენება გათვლილია ნივთიერებების მრავალი განსხვავებული ჯგუფისთვის, რაც ნაკლებად შესაძლებელს ხდის კონკრეტული ნივთიერებების ბუნების გათვალისწინებას.

ზემოთ აღნიშნულიდან გამომდინარე, მნიშვნელოვანია ზღვრული დასაშვები ნორმის (MRPL - Minimum Required Performance Limit), რომელიც შეადგენს 1 მკგ/კგ-ს [8], საკვლევი ნივთიერებების ფიზიკურ-ქიმიური თვისებების, სორბენტის და მატრიცის ბუნების გათვალისწინებით, ნიმუშის მყარფაზიანი განმენდის-

თვის ისეთი სვეტის მომზადება, რომელიც იქნებოდა სპეციფიკური და შერჩევითი კონკრეტულად ნიტროფურანის მეტაბოლიტებისთვის, რაც გაზრდიდა სითხური ქრომატოგრაფიული მეთოდის მგრძნობელობას საძიებელი ნივთიერებების დასადგენად და შესაძლებლობას მოგვცემდა გამოგვეყენებინა დიოდური დეტექტორი ძვირადღირებული მას - დეტექტორის ნაცვლად.

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ფრინველის ხორცში ნიტროფურანების ნარჩენების განსაზღვრისას, ექსტრაქტის გასასუფთავებლად, სპეციფიკური და კონკრეტულად ნიტროფურანის მეტაბოლიტებისთვის, შერჩევითი მყარფაზიანი სვეტის მომზადება, რომელიც გაზრდიდა სითხური ქრომატოგრაფიული მეთოდის მგრძნობელობას საძიებელი ნივთიერებების დასადგენად და შემუშავებული მეთოდის ვალიდაცია საქართველოს მთავრობის №499 დადგენილების [2] მოთხოვნების შესაბამისად.

კვლევის მასალას წარმოადგენდა ფურაზოლიდონის (AOZ), ფურალტადონის (AMOU), ნიტროფურანტონის (AHD), ნიტროფურაზონის (SEM) სტანდარტული ნიმუშები და ფრინველის ხორცის ნიმუში, რომელშიც კვლევის დაწყებამდე შეტანილი იყო ნიტროფურანების ცნობილი რაოდენობები.

კვლევა განხორციელდა სითხური ქრომატოგრაფიული მეთოდით, დიოდური დეტექტორის გამოყენებით 376 ნმ-ზე, ხარისხის საერთაშორისო სტანდარტების მოთხოვნების შესაბამისად, ვალიდაციის შემდეგი მახასიათებლების მიხედვით: სპეციფიკურობა, აღმოსაჩენი მინიმუმი, რაოდენობრივი განსაზღვრის ზღვარი, გამოსავალი და სწორხაზოვნება.

ექსპერიმენტული ნაწილი:

სტანდარტული ნიმუშის ხსნარები

სტანდარტული ნიმუშების ხსნარებად გამოყენებული იყო AHD, SEM, AMOU, AOZ სტანდარტული ნიმუშების აცეტონიტრილიანი ხსნარები.

მყარფაზიანი სვეტის მომზადება

საკვლევი ნივთიერებების ფიზიკურ-ქიმიური თვისებების, სორბენტის და მატრიცის ბუნების გათვალისწინებით, ნიმუშის მყარფაზიანი განმედი-თვის სვეტის მოსამზადებლად შეირჩა სილიკაგელი 60, სვეტის ზომა კი 20 x 40 მმ.

სვეტი მომზადდა მშრალი მეთოდით, ჩარეცხვა 5 მლ ჰექსანით, შრობა ვაკუუმით, კვლავ ჩარეცხვა აცეტონიტრილით და გაშრობა ვაკუუმით.

ჩვენ მიერ შემოთავაზებული სვეტის ვარგისობის დასადასტურებლად, განხორციელდა მეთოდის ვალიდაცია.

მეთოდის ვალიდაცია

სპეციფიკურობა

დადგინდა, რომ ოთხივე საძიებელი ნივთიერებისთვის სპეციფიკურია 376 ნმ სიგრძის ტალღა. სპეციფიკურობის ვარიაციის კოეფიციენტი ერთი დღის განმავლობაში არის 0,02-0,18, ერთი სამუშაო კვირის განმავლობაში 0,02-0,29, რაც შეესაბამება ვალიდაციის მოთხოვნებს.

აღმოსაჩენი მინიმუმის (LOD), რაოდენობრივი განსაზღვრის ზღვარის (LOQ) და გამოსავალის სიდიდეები მოცემულია ცხრილში №1 (n = 6).

ცხრილი №1
აღმოსაჩენი მინიმუმის (LOD),
რაოდენობრივი განსაზღვრის ზღვარის (LOQ)
და გამოსავალის სიდიდეები (n=6)

საკვლევი ნივთიერება	გამოსავალი %	LOD	LOQ
AOZ	90,6	0,18	0,39
AMOU	93,4	0,15	0,36
AHD	92,3	0,11	0,30
SEM	90,0	0,13	0,32

სწორხაზოვნება

საკალიბრო გრაფიკების ასაგებად გამოვიყენეთ 5 კონცენტრაციის ხსნარი: 0,4, 0,8, 1, 1,4 და 1,8 მკგ/კგ. ოთხივე საძიებელი ნივთიერებისთვის გრაფიკები სწორხაზოვანია მითითებულ ზღვარში და კორელაციის კოეფიციენტები მეტია 0,999.

დასკვნა

ფიზიკურ-ქიმიური თვისებების, სორბენტის და მატრიცის ბუნების გათვალისწინებით, ფრინველის ხორციდან ექსტრაგირებული ნიტროფურანის ნაწარმი ანტიბიოტიკების მეტაბოლიტების, კერძოდ, ფურაზოლიდონის, ფურალტადონის, ნიტროფურანტონის და ნიტროფურაზონის მყარფაზიანი განმედი-თვის სვეტის მოსამზადებლად შემოთავაზებულია სორბენტი - სილიკაგელი 60, ნაწილაკების ზომა 0,2-0,5 მმ, სვეტის ზომა 20x40 მმ, ელუენტი - ეთილაცეტატი, ელუენტის მოცულობა 5 მლ, ნიმუშის და ელუენტის სიჩქარე 5 მლ/წთ.

შემოთავაზებული სვეტის ვარგისობა დადასტურებულია ექსპერიმენტულად, მეთოდის ვალიდაციით. საანალიზო ნიმუშიდან ექსტრაგირებული ნიტროფურანების ჩვენს მიერ შემოთავაზებული სვეტით გასუფთავების შემდეგ მიიღწევა 90%-ზე მაღალი გამოსავალი კარგი განმეორებადობით (RSD ≤ 2.0%).

შემოთავაზებული სვეტი სპეციფიკურია, შერჩევითი კონკრეტულად ნიტროფურანის მეტაბოლიტებისთვის, ზრდის სითხური ქრომატოგრაფიული მეთოდის რაოდენობრივი განსაზღვრის ზღვარს, რაც შესაძლებელს ხდის დიოდური დეტექტორის გამოყენებას ძვირადღირებული სვეტების და მას-დეტექტორის ნაცვლად და შედარებით დაბალი ფინანსური ხარჯებით მიიღწევა ნიტროფურანის მეტაბოლიტების რაოდენობრივი განსაზღვრა ევროკავშირის მიერ დადგენილ ზღვარში (1 მკგ/კგ).

ნიტროფურანის მეტაბოლიტების განსაზღვრის შემოთავაზებული პირობები შედარებით ხელმისაწვდომია და მცირე ფერმერებს, განვითარებად ქვეყნებსა და რეგიონებს მის დაწერგვის საშუალებას მისცემს, რაც, თავის მხრივ, უზრუნველყოფს ხორცისა და ხორცპროდუქტების უსაფრთხო გამოყენებას.

ლიტერატურა:

1. Commission Decision 2002/657/EC of 12 August 2002 implementing Council directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of re-

sults. Official Journal of the European Communities, L221, 8–36 pp. <http://faolex.fao.org/docs/pdf/eur49615.pdf>

2. საქართველოს მთავრობის დადგენილება №499 ტექნიკური რეგლამენტი - ცოცხალ ცხოველებსა და ცხოველური წარმოშობის სურსათში ზოგიერთი ნივთიერებისა (სუბსტანციის) და მათი ნარჩენების გამოკვლევისათვის ანალიზის მეთოდების განხორციელებისა და შედეგების ინტერპრეტაციის წესი. 08.11.2016

3. Violante, FGM; de Oliveira Rosas, et al. Feasibility study for the development of a certified reference material of nitrofurans metabolites in chicken breast muscle from produced metabolic samples // Measurement 2018, V. 129, 368–374 pp. DOI: 10.1016/j.measurement.2018.07.027;

4. Johnston, L.; Croft, M.; Murby, et al. Extraction of furazolidinone metabolite from prawn // Anal. bioanal. Chem. 2015, 407, 4535–4540 pp. DOI: 10.1007/s00216-015-8653-y

5. Alkan F., Kotan A, Ozdemir N.. Development and Validation of Confirmatory Method for Analysis of Nitrofurans Metabolites in Milk, Honey, Poultry Meat and Fish by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry Macedonian // Veterinary Review 2016, V.39, No. 1. DOI: <https://doi.org/10.1515/macvetrev-2015-0060>

6. Rodziewicz L., Determination of nitrofurans metabolites in milk by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry // Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences. 2008, V.864, #1-2, 156-60pp. DOI: 10.1016/j.jchromb.2008.01.008

7. Sniogocki T., Giergiel M., Selb., Posyniak A. New Method of Analysis of Nitrofurans and Nitrofurans Metabolites in Different Biological Matrices Using UHPLC-MS/MS // J. Vet Res. Jun 2018; V. 62, no. 2, pp. 161–166. doi: 10.2478/jvetres-2018-0025

8. Commission Decision (2003): Commission Decision 2003/181/EC of 13 March 2003 amending Decision 2002/657/EC as regards the setting of minimum required performance limits (MRPLs) for certain residues in food of animal origin. Official Journal of the European Communities, L71, 17–18

SUMMARY

Gotsiridze Davit², Baramidze Ketevan¹,
Chikviladze Tamar², Otarashvili Tamar²

SOLID-PHASE COLUMN MODIFICATION FOR PURIFICATION OF NITROFURAN METABOLITES EXTRACTED FROM POULTRY MEAT

“GLOBALTEST” EXAMINATION LABORATORY ¹;
TSMU, DEPARTMENT OF PHARMACEUTICAL AND
TOXICOLOGICAL CHEMISTRY²

Taking into account the physico-chemical properties, the nature of the sorbent and the matrix, for solid-phase purification of extracted for meat nitrofurans metabolites we have proposed Sorbent - silica gel 60, particle size 0.2-0.5 mm, column size 20x40 mm, eluent - ethyl acetate, eluent volume 5 ml, sample and eluent speed 5 ml/min.

The suitability of the proposed column has been confirmed experimentally by method validation. After purifying the nitrofurans extracted from the analyte sample with our proposed column, a recovery higher than 90% is achieved

with good reproducibility (RSD ≤ 2.0%).

The proposed column is specific, selective especially with respect to nitrofurans metabolites, increases the limit of quantitative determination of the HPLC method, which makes it possible to use a diode detector instead of expensive columns and a mass detector and, at relatively low financial costs, carry out the quantitative determination of nitrofurans metabolites within the limit established by the European Union (1 µg/kg).

The proposed conditions for determining nitrofurans metabolites are relatively accessible and will allow them to be implemented by small farmers, developing countries and regions, which in turn ensures the safe use of meat and meat products.

გრიგოლია დავით, მოსიძე კახა, მერაბიშვილი
გელა, ბერიაშვილი რუსუდან

ელექტროტრაპის დიაგნოზი კრეატინინაზის ცვლილებების მიხედვით

თსსუ, სასამართლო მედიცინის დეპარტამენტი

საკითხის აქტუალობა: ელექტროდენით დაზიანების დიაგნოსტიკა ერთ-ერთი ყველაზე მნიშვნელოვანი საკითხია სასამართლო მედიცინაში. საკითხის მნიშვნელობას ზრდის ის ფაქტი, რომ ელექტროდენით დაზიანება ხშირად არასპეციფიკურია და სწორი დიაგნოსტიკა მნიშვნელოვან სირთულეებთან არის დაკავშირებული, განსაკუთრებით მაშინ, როდესაც კანზე ელექტრონიშა არ ვითარდება ან დაზიანება ვითარდება არადაზიანებული ფორმით (1), რის გამოც დიაგნოზის სწორად დასასმელად საჭიროა კვლევის თანამედროვე ახალი მეთოდების გამოყენება (2). ლიტერატურული მონაცემებით, ელექტროტრაპიის სისხლში შეინიშნება კრეატინინაზის რაოდენობრივი ცვლილება (3, 4, 5, 6, 7), რომლის გარკვეული ტიპის ცვლილებები შესაძლოა დიაგნოსტიკისათვის პრინციპული მნიშვნელობის იყოს.

საკვლევი მასალა და მეთოდები: კრეატინინაზის განსაზღვრისთვის ჩატარებულ იქნა ექსპერიმენტი ვირთაგვებზე მოდელირებული ელექტროტრაპით. ექსპერიმენტის მოდელირებაზე თანხმობა მიღებულ იქნა თსსუ-ის ეთიკური კომისიისგან. გამოსაკვლევად აღებულ იქნა ვისტარის ჯიშის 19 ზრდასრული ვირთაგვის გვამური სისხლი EEDTA-იან ვაკუტაინერებში, აღებული სისხლიდან გამოყოფილ იქნა პლაზმა, რომელიც ცენტრიფუგირებულ იქნა 10 წუთის განმავლობაში 10 000g 4°C-ზე და განზავდა 40-ჯერ. შესწავლილი იქნა კრეატინინაზის B ტიპი. პლაზმაში ჯამური ცილის რაოდენობა განისაზღვრა 4 პარალელური სინჯით მიკრობიციტინინის მჟავას ცილის ანალიზის ნაკრების გამოყენებით (Pierce-ნაკრები). ალიკოტები, რომლებიც შეიცავდნენ ზუსტად 30