

ÚSTAV LÉKAŘSKÉ BIOCHEMIE A LABORATORNÍ DIAGNOSTIKY 1. LF UK  
PRAHA

# Vybrané vyšetřovací metody v toxikologii

---

Praktické cvičení z lékařské biochemie  
*Všeobecné lékařství*



Lenka Fialová

2024/2025

## Obsah

1. Jedy, toxické látky .....	3
2. Biologický materiál .....	3
3. Toxikologické vyšetření .....	4
4. Biotransformace léčiv .....	8
5. Ethanol z toxikologického hlediska .....	10

## 1. Jedy, toxické látky

Toxikologie je interdisciplinární obor, zabývající se nepříznivými (toxickými) účinky cizorodých chemických látek (xenobiotik) na živý organismus. Toxikologie zahrnuje *dva aspekty* – *lékařský*, který se zaměřuje na sledování účinků jedů a hledání optimální léčby otrav, a *analytický*, který se zabývá průkazem a stanovením množství většinou neznámé látky či směsi neznámých látek a jejich metabolitů v biologickém, popř. nebiologickém materiálu.

*Jako jedy (toxické látky, jedovaté látky)* jsou označovány chemické látky, které jsou schopné po vniknutí do organismu vyvolat již v relativně malém množství poškození organismu. Jako jed mohou při předávkování působit i léčiva.

Toxikologicky významné látky zahrnují široké spektrum látek s různými fyzikálně-chemickými vlastnostmi:

- léčiva, návykové látky;
- těkavé látky (např. ethanol, methanol, toluen, trichlorethylen);
- plyny (např. oxid uhelnatý, kyanovodík);
- anorganické kyseliny a zásady;
- kovy (např. arsen, olovo, rtuť).

## 2. Biologický materiál

Při toxikologické analýze se zpracovává různý biologický materiál. Na vyšetření je ho zapotřebí zaslat dostatečné množství, umožňující v případě otravy neznámým jedem provést co nejvíce analýz.

Obvyklé vyšetřované materiály jsou tyto:

- **Žaludeční obsah** – alespoň 50 ml zvratků nebo první porce žaludečního výplachu. Analýza žaludečního obsahu má význam v časně fázi otravy, pokud se látka ještě nevstřebala. V žaludečním obsahu lze prokázat léčiva v původní formě.
- **Krev, popř. sérum** (minimálně 10 ml) – hladina v krvi je ovlivněna délkou doby, která uplynula od vstupu noxy (= škodliviny) do organismu, rychlostí jejího vstřebání a vylučování. Koncentrace jedu v krvi bývají nízké. Krev je vhodná především pro kvantitativní analýzu.
- **Moč** – jed se v moči objevuje později než v krvi, ale také déle přetrvává, a proto analýza moči nabývá na významu v pozdějších stádiích otrav. Jedovatá látka bývá v moči často koncentrována, nemusíme však prokázat původní formu, ale řadu jejích metabolitů. Proto bývá analýza moči náročnější. Je nejvhodnějším materiálem pro záchyt a identifikaci jedu a pro analýzu je zapotřebí 100 ml (minimálně 50 ml).
- **Biologický materiál získaný po smrti** – obsah zažívacího traktu, vzorky tkání, tělesné tekutiny.
- **Materiál zajištěný v souvislosti s otravou** – zahrnuje tablety, tekutiny, injekční stříkačky, zbytky potravy.
- **Vlasy** – kumulují některé látky, a proto umožňují průkaz abusu drog nebo chronické expozice jinými škodlivinami v minulosti.
- **Vydechovaný vzduch** – obsahuje těkavé látky.
- **Sliny** – jsou využívány zejména pro rychlé záchytové testy drog při kontrole řidičů motorových vozidel nebo zaměstnanců při výkonu povolání.
- **Mekonium** (první novorozenecká stolice) – lze jej využít při podezření na abusus drog u těhotné ženy.

Vzorky biologického materiálu by měly být transportovány ve zcela čistých nádobách, beze stop dezinfekčních prostředků a saponátů. Nádoby je třeba těsně uzavřít; zejména při podezření na otravu těkavými látkami nebo oxidem uhelnatým je nutno zkumavku naplnit až po okraj a těsně uzavřít. Spolu s biologickým materiálem se do laboratoře zasílá žádanka o toxikologické vyšetření, kde je třeba uvést kromě identifikačních údajů také informaci o klinickém stavu pacienta, podezření na konkrétní jed, přibližnou dobu požití jedu a medikamentózní terapie před odběrem vzorku.

### 3. Toxikologické vyšetření

Zásadním úkolem toxikologického vyšetření je zjištění přítomnosti neznámé látky v biologickém materiálu. Toxikologická vyšetření biologického materiálu jsou prováděna jednak pro potřeby lékařů ve zdravotnických zařízeních, jednak mohou být požadována orgány činnými v trestním řízení.

#### 3.1. Indikace k toxikologickému vyšetření

Nejčastější *důvody požadování toxikologického vyšetření* jsou tyto:

- podezření na otravu neznámým jedem
  - odlišení diagnózy akutní otravy oproti jiným chorobným stavům – obvykle se jedná o nemocné hospitalizované na jednotkách intenzivní péče či resuscitačních odděleních, v těchto situacích je kladen důraz na rychlou analýzu;
  - otravy, u nichž je podezření na trestný čin;
- průkaz zneužívání drog a kontrola dodržování drogové abstinence;
- kontrola účinnosti a dodržování terapie.

#### 3.2. Metody užívané v toxikologii

Vyhledávání a identifikace neznámého jedu nebo jedů v biologickém materiálu je velmi složitý a analyticky náročný proces. Mnohdy vyžaduje použití celého spektra analytických metod.

Volba analytické metody je ovlivněna povahou jedu. Jedovaté látky lze rozdělit na **těkavé** a **extraktivní**, které můžeme dále rozlišit na kyselé, bazické či neutrální v závislosti na pH prostředí, do něhož přecházejí během extrakce. Další dělení jedovatých látek je na **anorganické** a **organické**.

V toxikologické analytice převládají především různé typy chromatografických metod (*tenkovrstvá chromatografie* – TLC, *vysokoúčinná kapalinová chromatografie* – HPLC a *plynová chromatografie* – GC, obě poslední uvedené často ve spojení s *hmotovou spektrometrií* – MS). Významné místo zaujímají i *imunochemické metody*. Stanovení těkavých látek je doménou *plynové chromatografie*, kde zvláštní postavení vzhledem k vysoké frekvenci vyšetření má stanovení ethanolu. *Spektrofotometrické metody* jsou využívány pro analýzu toxikologicky významných derivátů hemoglobinu (karbonylhemoglobin, methemoglobin, sulfonylhemoglobin, kyanmethemoglobin).

V analýze anorganických látek se uplatňují další metody jako je *atomová absorpční spektrometrie*, *neutronová aktivační analýza* nebo *polarografie*.

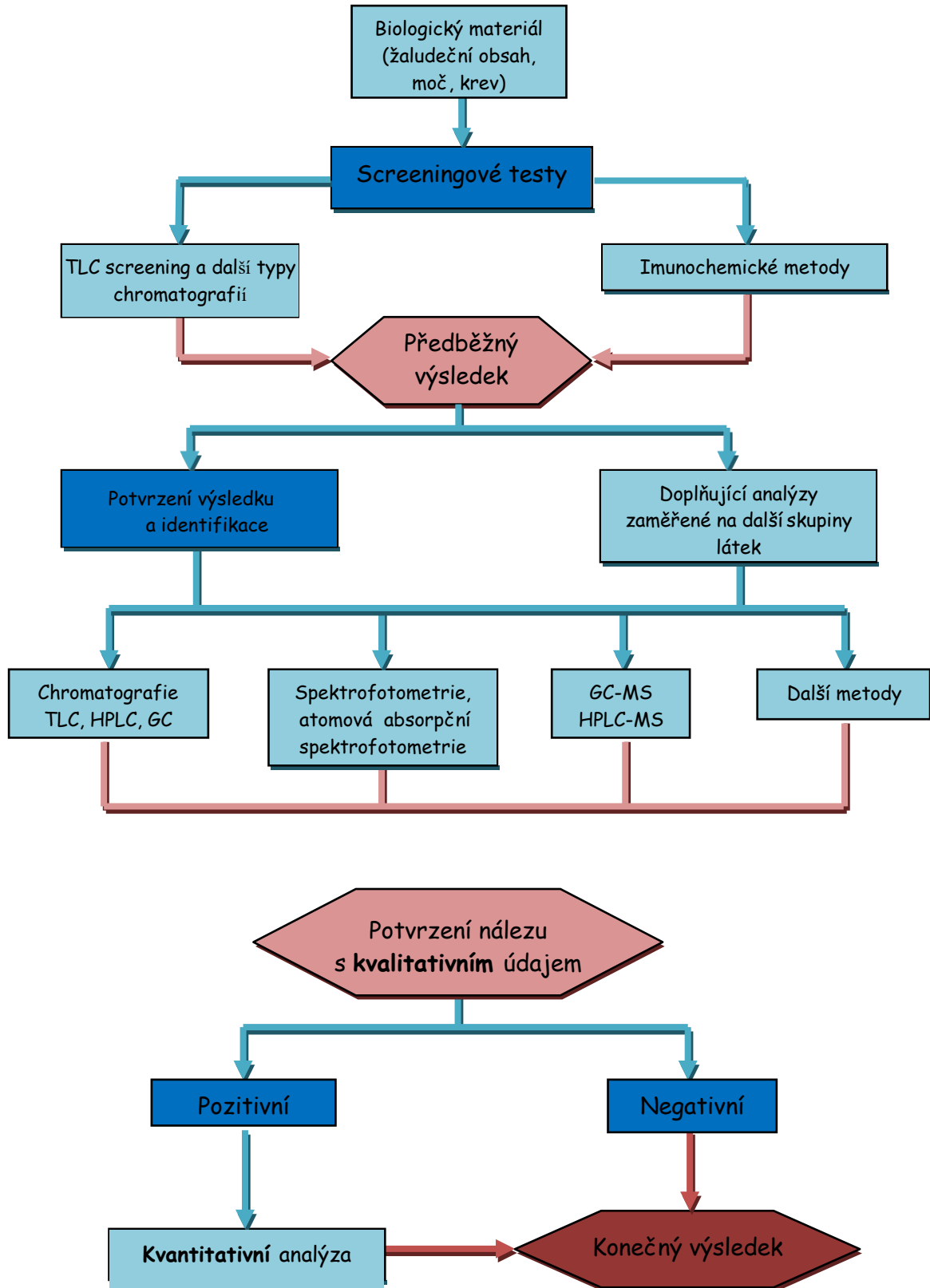
#### 3.3. Postup při toxikologické analýze

Při toxikologickém vyšetření neznámé látky v biologickém materiálu se uplatňuje postup systematické toxikologické analýzy, který zahrnuje několik na sebe navazujících kroků (obr. 1):

- ***záchyt neboli screening*** – využívá hlavně imunochemické a chromatografické metody (tenkovrstvá, plynová a kapalinová), pomocí nichž detekujeme vybrané skupiny strukturálně podobných látek bez požadavku na identifikaci konkrétního chemického individua;
- ***průkaz neboli identifikace*** chemického individua – většinou je zapotřebí aplikovat náročnější metody. Uplatňuje se kapalinová a plynová chromatografie s hmotnostní detekcí, tenkovrstvá chromatografie v různých systémech vyvíjecích soustav, sorbentů a detekčních činidel a další metody;
- ***kvantitativní stanovení cizorodé látky v biologickém materiálu;***
- ***vyhodnocení nálezů toxikologem a lékařem.***

V dalším výkladu se zaměříme především na první fázi toxikologické analýzy se zaměřením na úlohy v praktickém cvičení.

Obr. 1 Schéma postupu při toxikologické analýze



### 3.4. Screening (záchyt)

Záchyt neznámé noxy představuje úvodní krok toxikologické analýzy. Výsledky získané screeningovými testy bývají spíše orientačního charakteru a je třeba si uvědomit, že nemusí zachytit nepředpokládané látky. Předběžné zkoušky nemusí být specifické, ale měly by se vyznačovat **dostatečnou citlivostí** tak, aby negativní výsledek byl skutečně spolehlivý. V naléhavých případech (bezvědomí neznámého původu) je nutným požadavkem rychlá analýza. Pro zahájení terapie je někdy postačující předběžný výsledek, který může být později potvrzen a doplněn pomocí specifitějších a časově náročnějších metod.

Při screeningu neznámých látek našly své uplatnění především imunochemické metody a tenkovrstvá chromatografie.

#### Imunochemické metody

Jsou vhodné především v úvodní fázi toxikologického vyšetření. Průkaz drogy imunochemickými metodami je založen na její reakci se specifickou protilátkou. V závislosti na použité protilátce je možno imunochemicky detekovat skupinu příbuzných látek (méně specifická protilátka), nebo jedinou substanci (vysoce specifická protilátka).

Pro účely screeningu se volí imunochemické metody pro průkaz skupin látek, které patří zejména mezi závažné a často užívané drogy (omamné a psychotropní látky). Imunochemickým skupinovým screeninem se rychle vytřídí suspektně pozitivní vzorky. Jejich výhodou je, že nevyžadují předchozí úpravu vzorku a pro analýzu stačí malý objem vzorku. Nevýhoda imunochemických metod spočívá v možnosti falešně pozitivních výsledků, neboť použitá protilátka může zkříženě reagovat i s látkami jiné skupiny.

Pro provedení imunochemických metod bývají k dispozici imunochemické analyzátoři, které mohou poskytnout výsledek během několika minut.

Na imunochemickém principu jsou založeny i testy spadající do oblasti *tzv. POCT* (Point of Care Testing) diagnostiky. Umožňují rychlou analýzu v terénu nebo u lůžka nemocného mimo laboratoř bez nároků na přístrojové vybavení. Výsledek je hodnocen jako pozitivní či negativní na základě předem dohodnutých hranic positivity (*tzv. hodnota cut off*). Ve formě diagnostických proužků nebo destiček se používají pro testování drog v moči, ve slinách či potu.

POCT testy pro drogy existují v různé formě:

- **Papírové proužky** pro kvalitativní či semikvantitativní stanovení *jednoho analytu*. Manipulace s proužkem je velmi jednoduchá – proužek se ponoří do moči na několik sekund, během nichž dojde k adsorpci vzorku do proužku. Poté moč migruje proužkem, kde je případná noxa prokazována imunochemicky.
- Proužkové testy pro *jeden či více analytů* uložené v *ochranném rámečku*. Kromě vlastního testovací políčka bývá součástí proužku další kontrolní zóna, která nás informuje, zda je proužek funkční. Vyšetření trvá o něco déle (několik minut), ale výsledky jsou spolehlivější.
- **Testovací nádobky** slouží jako test a zároveň k transportu. Na boku nádoby je testovací oblast. Tímto způsobem lze v současnosti prokázat nejčastěji užívané drogy – amfetamin, metamfetamin, benzodiazepiny, kannabinoidy, kokain, opiáty, fencyklidin, tricyklická antidepresiva.

Jeden z **principů** stanovení drog v moči nebo ve slinách spočívá v **soutěži mezi drogou ve vyšetřovaném vzorku a konjugátem drogy**, který je imobilizován v detekční zóně proužku **o omezené množství specifické protilátky**.

Vzorek putuje reakční zónou obsahující specifické protilátky navázané na barevné mikročástice, které se v průběhu reakce mobilizují. Moč i rehydratované značené protilátky postupují reakčním proužkem a v detekční zóně se setkají se zakotvenými konjugáty drog.

Pokud vyšetřovaný **vzorek obsahuje drogu**, vazebná místa barevně označených protilátek jsou jimi saturována a nemohou se tedy navázat na imobilizované konjugáty drog. **Barva detekční zóny zůstane nezměněna a výsledek je odečítán jako pozitivní. V nepřítomnosti drogy** ve vyšetřovaném vzorku jsou značené protilátky zachyceny imobilizovaným konjugátem drogy. V detekční zóně se vytvoří **barevný proužek, který znamená negativní výsledek**. Výsledky

získané výše uvedenými postupy poskytují pouze předběžnou informaci, která **musí být potvrzena specifitější chemickou metodou**.

## TLC-screening

Principem metody je záchyt neznámého léčiva, popř. jeho metabolitů v biologickém materiálu pomocí několika kritérií, z nichž každé umožňuje zařadit zachycené léčivo či metabolit do určité skupiny. Výhodou TLC screeningu je detekce širšího spektra látek a jejich metabolitů a dále možnost **rozlišit jednotlivé složky při analýze směsí**. Patří mezi jednoduché a ekonomicky nenáročné metody. Na rozdíl od imunochemických metod je při použití tenkovrstvé chromatografie nutná předchozí úprava vzorku. TLC screening zahrnuje několik kroků. Každý z nich přispívá k poznání charakteru hledané látky.

### Extrakce

V biologickém materiálu se hledaná substance nalézá obvykle v nízkých hladinách. Cílem extrakce je zkoncentrování léčiva, které je původně ve vodné fázi (biologické tekutiny), do organického rozpouštědla a současné odstranění většiny balastních látek. Rozpustnost v organické fázi je usnadněna úpravou pH vyšetřovaného materiálu, kterou se potlačí disociace funkčních skupin kyselého nebo bazického charakteru.

### Tenkovrstvá chromatografie

V analytickém systému tenkovrstvé chromatografie bývá **stacionární fází** silikagel (hydratovaná kyselina křemičitá). **Mobilní fáze** je tvořena směsí různě polárních rozpouštědel s přidávkou kyseliny octové nebo amoniaku, které potlačují případnou disociaci analyzovaných látek. Na tenkou vrstvu se obvykle **nanáší vzorek kyselého a alkalického extraktu** do několika startů, které jsou určeny pro základní a barevné detekce. Současně s neznámými vzorky se analyzuje i standardní směs, jejíž jednotlivé složky jsou voleny tak, že se v chromatogramu rozloží po celé délce. **Vyvíjení chromatogramu** probíhá vzestupně v uzavřené chromatografické komoře.

Pro **detekci skvrn**, jejíž podstatou je zviditelnění bezbarvých látek, se používají tyto základní postupy:

- **detekce v UV světle** při 254 nm a 366 nm;
  - průkaz fluoreskujících látek prohlédnutím chromatogramu;
- **vizuální detekce**
  - základní barevná detekce postříkáním univerzálním Dragendorffovým činidlem;
  - barevná detekce dalšími specifickými organickými či anorganickými činidly.

### Hodnocení nálezu:

Hodnotíme několik kritérií:

- **zařazení léčiva do extrakční skupiny** podle přítomnosti v kyselém a/nebo zásaditém extraktu
- **určení polohy jednotlivých skvrn na chromatogramu**  
Poloha je vztahována vzhledem ke standardům
- **hodnocení reakčních schopností látek při detekci**  
Hodnotí se fluorescence a barva skvrn včetně jejich odstínů, intenzity zbarvení a průběhu reakce (rychlost, prohloubení či vymizení zbarvení).

Vyhodnocením nálezu při TLC screeningu dospějeme k úzkému vymezení látek, které by mohly být přítomné ve vzorku. Následuje jejich **identifikace**, při které se vlastnosti hledané látky porovnávají s vlastnostmi látky, u níž předpokládáme, že je s ní totožná (standard). Při chromatografické identifikaci se vzorek analyzuje společně se standardem a analýza se opakuje alespoň v dalších 2 – 3 různých vhodných mobilních fázích a aplikují se doplňující detekce. Totožnost zachycené látky se standardem lze předpokládat, pokud vykazuje stejnou hodnotu  $R_F$  i stejnou reaktivitu při detekci.

## 4. Biotransformace léčiv

Většina cizorodých látek podléhá v organismu **biotransformaci**, při níž vznikají metabolity. Intenzivně jsou metabolizovány především lipofilní látky, jejichž přeměna zvyšuje jejich polaritu. To umožňuje vylučování vzniklých metabolitů močí.

Často se stává, že výchozí forma léčiva není v analyzovaném vzorku zastoupena. V tomto případě nabývá na významu **průkaz metabolitů**. Uplatňuje se zvláště u léčiv s krátkým biologickým poločasem, u nichž byl proveden odběr krve až poté, co bylo původní léčivo již metabolizováno. Z tohoto důvodu je zapotřebí při hodnocení toxikologického nálezu brát v úvahu, že mohou nastat tyto situace:

- léčivo je prokázáno v původní nezměněné formě;
- léčivo je prokázáno v původní formě společně s metabolitem;
- převažují metabolity.

Přeměna původní látky na metabolity komplikuje toxikologickou analýzu. Z analytického hlediska je třeba si uvědomit, že v průběhu biotransformace vznikají metabolity s odlišnými vlastnostmi, než mělo původní léčivo, např. přítomnost ionizujících skupin v molekule metabolitu způsobuje, že metabolit může přecházet do jiné extrakční frakce než původní forma. Metabolity mají obvykle polárnější charakter než původní struktury, a proto se při TLC pohybují pomaleji. Častým biotransformačním pochodem jsou konjugací reakce xenobiotika s různými endogenními polárními sloučeninami (např. kys. glukuronová, glycin, kyselina sírová).

### Příklady biotransformace

#### Biotransformace kyseliny acetylsalicylové

Kyselina acetylsalicylová je běžně používaný analgetický a antipyretický prostředek<sup>1</sup>. V toxikologické analytice se s kyselinou acetylsalicylovou setkáváme při intoxikaci dětí nebo při sebevražedném jednání dospělých, kde bývá zachycena společně s jinými léčivy, které jsou součástí kombinovaných analgeticko-antipyretických směsí.

Podstatou biotransformace kyseliny acetylsalicylové je štěpení na kyselinu octovou a kyselinu salicylovou ( $M_2$ ). Část kyseliny salicylové se vylučuje jako volná, část ve formě konjugátu s glycinem jako kyselina salicylurová ( $M_1$ ). Další podíl kyseliny salicylové je hydroxylován na kyselinu gentisovou ( $M_3$ ). Hydroxylací a konjugací původní formy léčiva se zvyšuje polarita vzniklých molekul a důsledkem je snížení jejich pohyblivosti při chromatografickém dělení. Kyselinu acetylsalicylovou a její záchyt v moči TLC chromatografií je na obr. 2.

#### Biotransformace kodeinu

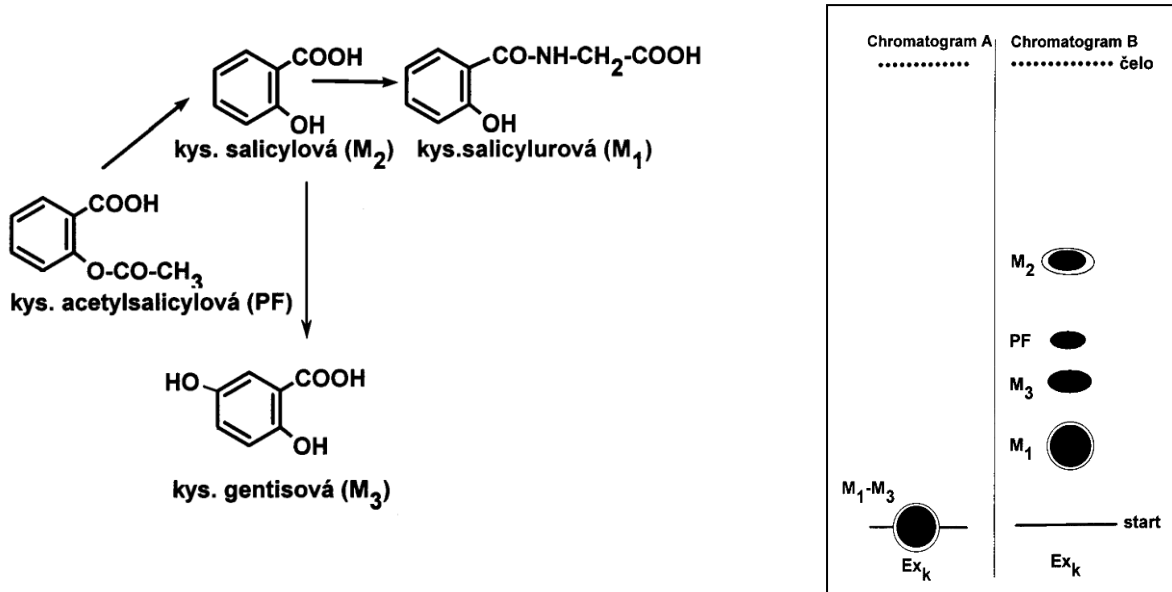
Kodein je prostředkem k tlumení kašle; kromě toho je součástí analgetických směsí. Patří mezi látky zneužívané toxikomany.

Biotransformační přeměna kodeinu je zajímavá tím, že jedním z metabolitů je morfin. Je to závažná skutečnost, na kterou je třeba myslet při interpretaci toxikologické analýzy. Morfin ( $M_1$ ) vzniká demethylační reakcí na kyslíku, tzv. O-demethylací. Kodein v organismu podléhá i dalšímu typu demethylace na dusíku - N-demethylací, jejímž produktem je norkodein ( $M_2$ ) (obr. 3).

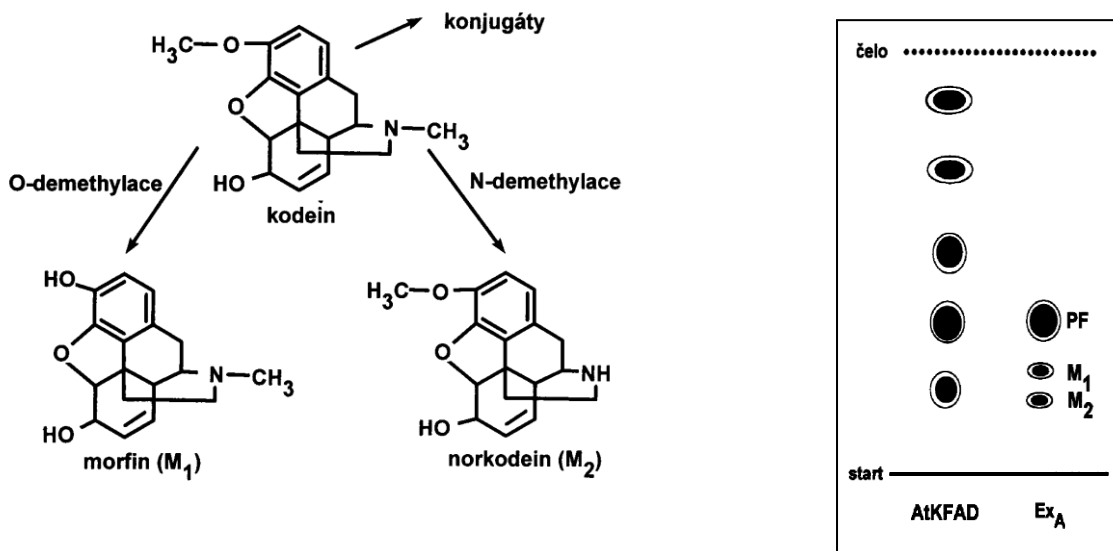
<sup>1</sup> Analgetická léčiva tlumí bolest, antipyretická léčiva snižují tělesnou teplotu.



**Obr. 2** Biotransformace kyseliny acetylsalicylové a její záchyt v moči TLC chromatografií na SILUFOLU (chromatogram A – základní mobilní fáze, chromatogram B – mobilní fáze o složení cyklohexan – tetrachlormetan – diethylether – kys. octová v poměru 10:10:10:5; detekce chromatogramů A i B chloridem železitým). M – metabolity, PF – původní forma.



**Obr. 3** Biotransformace kodeinu na morfin a norkodein a záchyt v alkalickém extraktu moči TLC chromatografií na SILUFOLU v základní mobilní fázi detekovaná Dragendorffovým činidlem (M<sub>1</sub> – morfin, M<sub>2</sub> – norkodein, PF – původní forma)



## 5. Ethanol z toxikologického hlediska

Stanovení ethanolu v biologickém materiálu patří k nejčastěji požadovaným vyšetřením v toxikologické laboratoři.

Hlavní farmakologické působení ethanolu se odehrává v CNS. Při nižších dávkách navozuje euforii a excitaci. Ve vyšších dávkách má účinky narkotické, může způsobit bezvědomí a v nejzávažnějších případech dokonce i smrt.

Požitý alkohol se snadno resorbuje v trávicím traktu. Distribuuje se do všech orgánů. Metabolismus ethanolu se odehrává především v játrech, kde je zejména pomocí enzymu alkoholdehydrogenasy oxidován na acetaldehyd, který je dále přeměňován na kyselinu octovou. Oxidaci podléhá asi 90 – 95 % ethanolu, minoritní množství je odbouráváno neoxidativními cestami, zbylá část se vylučuje v nezměněné podobě dechem a močí.

### 5.1. Stanovení ethanolu

Pro zjištění požití alkoholického nápoje či ovlivnění chování člověka alkoholem existují různé metody. V mnoha případech je dostačující provést **orientační vyšetření ethanolu ve vydechovaném vzduchu** pomocí vyhledávacích metod. Při pozitivním výsledku se přistupuje k **průkazu ethanolu v krvi**, tj. v krevním vzorku odebraném příslušné osobě ve zdravotnickém zařízení a jeho vyšetření ve specializované státní soudně lékařské laboratoři pomocí přesnějších metod.

#### Orientační stanovení ethanolu ve vydechovaném vzduchu

K vyšetření ethanolu ve vydechovaném vzduchu jsou k dispozici dechové analyzátory. Negativní dechová zkouška je dostatečně průkazné zjištění, že dech neobsahuje alkohol.

#### Dechové analyzátory

Některé dechové analyzátory využívají k určení přítomnosti alkoholu ve vydechovaném vzduchu citlivých *elektrochemických senzorů*. Součástí jiných typů dechových analyzátorů, které slouží pouze jako orientační měřidla, jsou *polovodičové senzory*. Více o dechových analyzátorech [zde](#).

#### Detekční trubičky

V minulosti se k průkazu ethanolu ve vydechovaném vzduchu používaly detekční trubičky. Průkaz ethanolu využíval redukci některých látek ( $K_2Cr_2O_7$ ,  $KMnO_4$ ) ethanollem, která byla doprovázena změnou zbarvení.

Vzduch obsahující páry ethanolu redukuje indikační směs. Vlivem redukce se žlutý  $K_2Cr_2O_7$  mění na zelený  $Cr_2(SO_4)_3$ . Ethanol se oxiduje na acetaldehyd. Reakce je nespecifická, mohou ji vyvolat např. ovoce, bonbony, ústní vody.



### 5.2. Stanovení ethanolu v krvi

Analytické metody ke stanovení koncentrace ethanolu v krvi jsou na rozdíl od výše uvedených způsobů velmi přesné a jejich výsledky jsou ze soudně lékařského hlediska směrodatné. Pro forenzní účely je nutno provádět stanovení ethanolu v každém vzorku dvěma na sobě nezávislými metodami, založenými na odlišných principech.

#### Stanovení ethanolu plynovou chromatografií

Za objektivní metodu přijatelnou z forenzního hlediska je považována *plynová chromatografie*, kterou je zapotřebí z téhož vzorku provést alespoň dvakrát. Umožňuje kvalitativně specifické i kvantitativní stanovení koncentrace ethanolu v krvi. Jednou z jejích výhod je, že

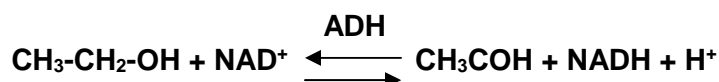
jednoznačně odliší ethanol od jiných těkavých látek jako je methanol, aceton nebo toluen.

Pro kvantitativní vyhodnocení se používá metoda vnitřního standardu. Jako vnitřní standard lze použít látku, která není přítomna v analyzovaném vzorku a ani nereaguje s žádnou složkou vzorku. Použitím vnitřního standardu se eliminuje vliv chyby, která může vzniknout nestejnou velikostí nástřiku vzorku a standardu na kolonu.

Při analýze postupujeme tak, že vzorek biologického materiálu smísíme s vnitřním standardem v přesném objemovém poměru. Stejně připravíme roztok ethanolu o známé koncentraci (standard). Poté směsi vyhodnocujeme plynovým chromatografem. Poměr výšek vrcholů stanovené látky nebo standardu a vnitřního standardu zůstává stejný i při rozdílné velikosti nástřiku.

### Ověřovací metody pro stanovení ethanolu

Jako ověřovací metoda může posloužit jiná metoda, která nemusí být specifická, ale je zapotřebí, aby byla přesná, např. metoda enzymová či Widmarkova. Principem enzymové metody je oxidace ethanolu  $\text{NAD}^+$  za katalytického působení enzymu alkoholdehydrogenasy (ADH) na acetaldehyd. Množství vzniklé redukované formy NADH je úměrné množství ethanolu ve vzorku. Absorbance NADH se měří v UV oblasti při 340 nm (Warburgův optický test). Tato metoda není úplně specifická pro ethanol; pro klinické účely je její použití možné.



Princip *Widmarkovy metody* spočívá v oxidaci ethanolu na kyselinu octovou dichromanem draselným  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ . Přebytek nezreagovaného dichromanu se stanovuje po přidání jodidu draselného jodometricky.

Koncentrace ethanolu v krvi se vyjadřuje v SI jednotkách v g/kg, které číselně odpovídají ‰. Pro lékařské účely se koncentrace vyjadřuje v mmol/l ( $1 \text{ g/kg} = 21,71 \text{ mmol/l}$ ). Při vyšetření plynovou chromatografií je alkohol v krvi považován z forenzního hlediska za pozitivní při zjištění hodnoty 0,21 g/kg a více<sup>2</sup>.

### 5.3. Ethylglukuronid

Ethylglukuronid je minoritním metabolitem ethanolu, který vzniká neoxidativním metabolismem konjugací s aktivovanou kyselinou glukuronovou. Na rozdíl od ethanolu ethylglukuronid není těkavý, je rozpustný ve vodě a stabilní při skladování. Močí se vylučuje v závislosti na dávce požitého alkoholu až po dobu 80 hodin. Lze ho detekovat v různých biologických tekutinách a jeho stanovení je možno využít jako ukazatel nedávného pití alkoholických nápojů.

Ke stanovení ethylglukuronidu lze použít metody chromatografické i imunochemické, včetně rychlých imunochromatografických testů.

<sup>2</sup> Hodnota do 0,20 g/kg se považuje za neprůkaznou. Bere se v úvahu možnost laboratorní chyby.

**Použitá literatura:**

- Babjuk J. a kol.: Bioanalytika léků. Avicenum, Praha, 1990.
- Balíková M.: Toxikologické analýsy pro potřeby klinické a soudní. Lékařské listy, 26. 7. 2001, str. 6-8.
- Balíková M.: Forenzní a klinická toxikologie: laboratorní toxikologická vyšetření. Druhé, doplněné vydání. Galén, Praha 2017.
- Chundela B. a kol.: Vybrané kapitoly z toxikologie. Institut pro další vzdělávání středních zdravotnických pracovníků, Brno 1986.
- Kraml J. a kolektiv: Návody k praktickým cvičením z lékařské chemie a biochemie. Karolinum, Praha 1999.
- Park, S.H., Lee, Y.S., Sim, J. et al. Alcoholic liver disease: a new insight into the pathogenesis of liver disease. Arch. Pharm. Res. 2022, 45, str. 447–459.
- Prokeš J. a kol.: Základy toxikologie I. Karolinum, Praha, 1997. Prokeš J. a kol.: Základy toxikologie II. Karolinum, Praha, 1998. Prokeš J. a kol.: Základy toxikologie. Galén, Karolinum, Praha 2005.
- Racek J. a kolektiv: Klinická biochemie. Galén-Karolinum, 1999.
- Samková H., Pivnička J.: Toxikologie – pomocník, svědek a důkazový materiál. Lékařské listy, 11.7. 2002, str. 5–7.
- Šprongl L.: Možnosti ultrarychlé toxikologické diagnostiky u akutních příhod toxikomanů. Postgraduální medicína, 2001, str. 564-567.
- Štípek St.: Stručná toxikologie. Medprint, Praha 1997.
- Thomas I.: Clinical laboratory diagnostics. TH-Book, Frankfurt/Main, 1998
- Večerková J.: Postupy při záchytu a identifikaci léčiv a jejich metabolitů v biologickém materiálu pomocí chromatografie na tenkých vrstvách, SNP, Praha, 1983
- Večerková J.: Léčiva v biologickém materiálu. In: Materia pharmaceutica 5. Ed. Horáková O. a kol., Osveta 1987.
- Zedníková K., Ondra P.: Toxikologická vyšetření - možnosti, úskalí a pozitivní nálezy. Lékařské listy, 26.1. 2001, str. 9–12.
- Zima T. a kol.: Laboratorní diagnostika. Galén, Praha, 2013.