

Indikace a interpretace vyšetření v toxikologii

Drahomíra Springer

ÚLBDL VFN a 1.LF UK Praha 2



OBEČNÁ TOXIKOLOGIE

Toxikologie - nauka o škodlivých účincích látek na živé organizmy a ekosystémy.

Obecná

Experimentání

Klinická

Vojenská

Průmyslová

Forenzní

Predikční

Ekotoxikologie

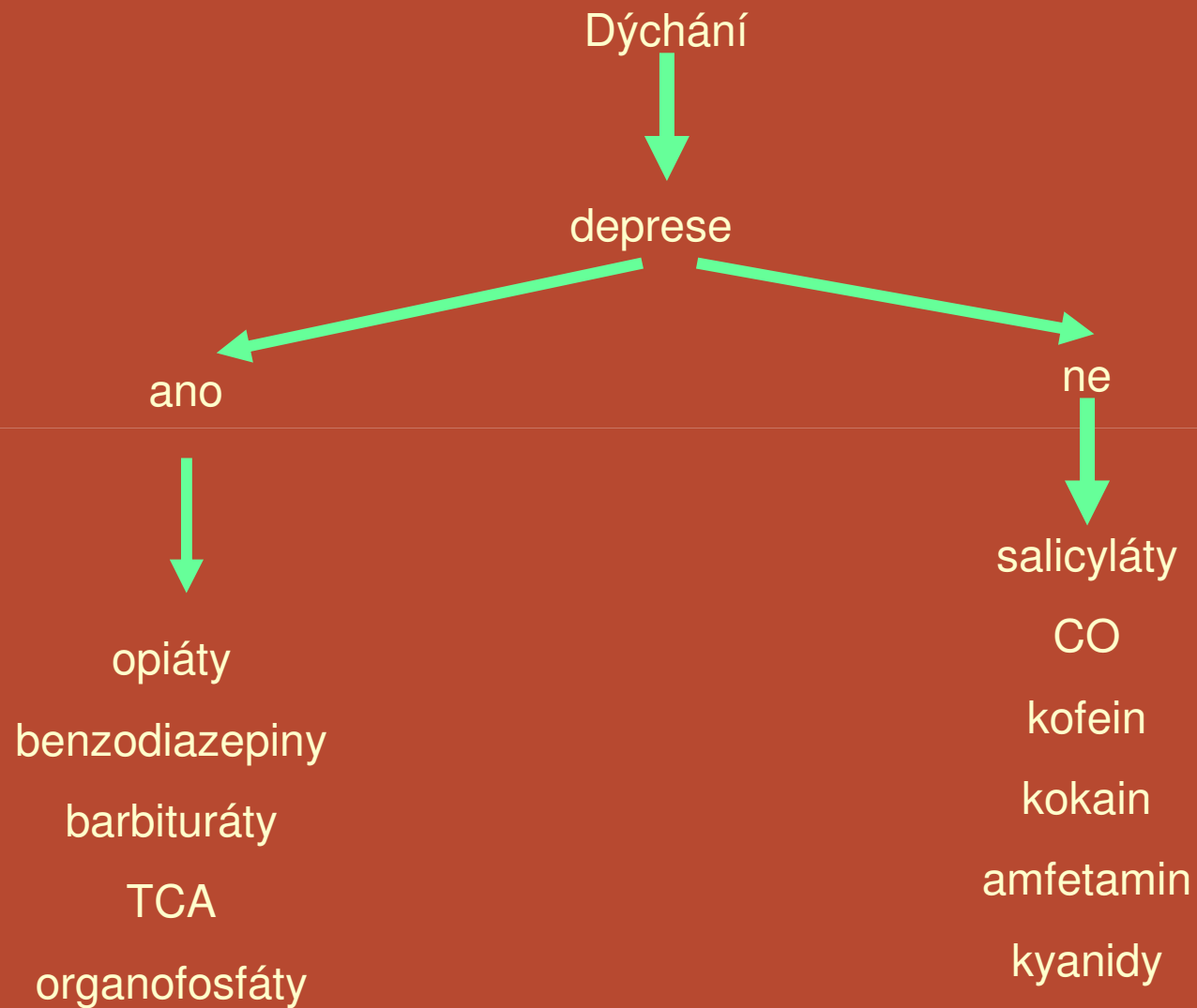
Toxikologie

- Léky – substance s farmakologickým účinkem na organismus
- Zneužití –
 - Výškou dávky
 - Bez nutnosti užití
 - Jiné než zamýšlené užití
- Závislost – psychická nebo fyzická

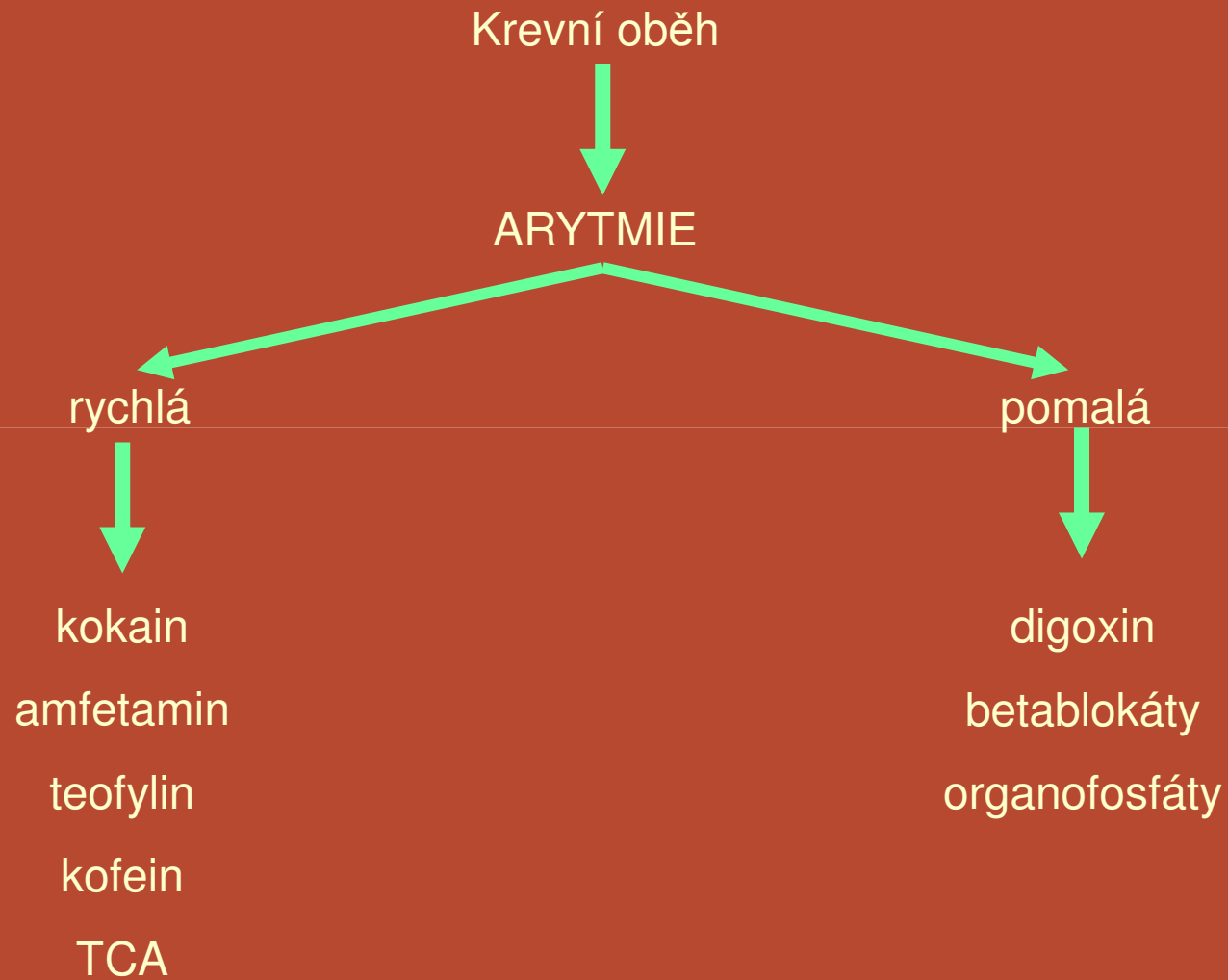
Intoxikace

- Každé předávkování jedem nebo lékem vytváří v těle neznámou situaci
- Ovlivní fyziologické i biochemické funkce
- Cíl - eliminovat jed – odstranit z organismu, zbavit funkce

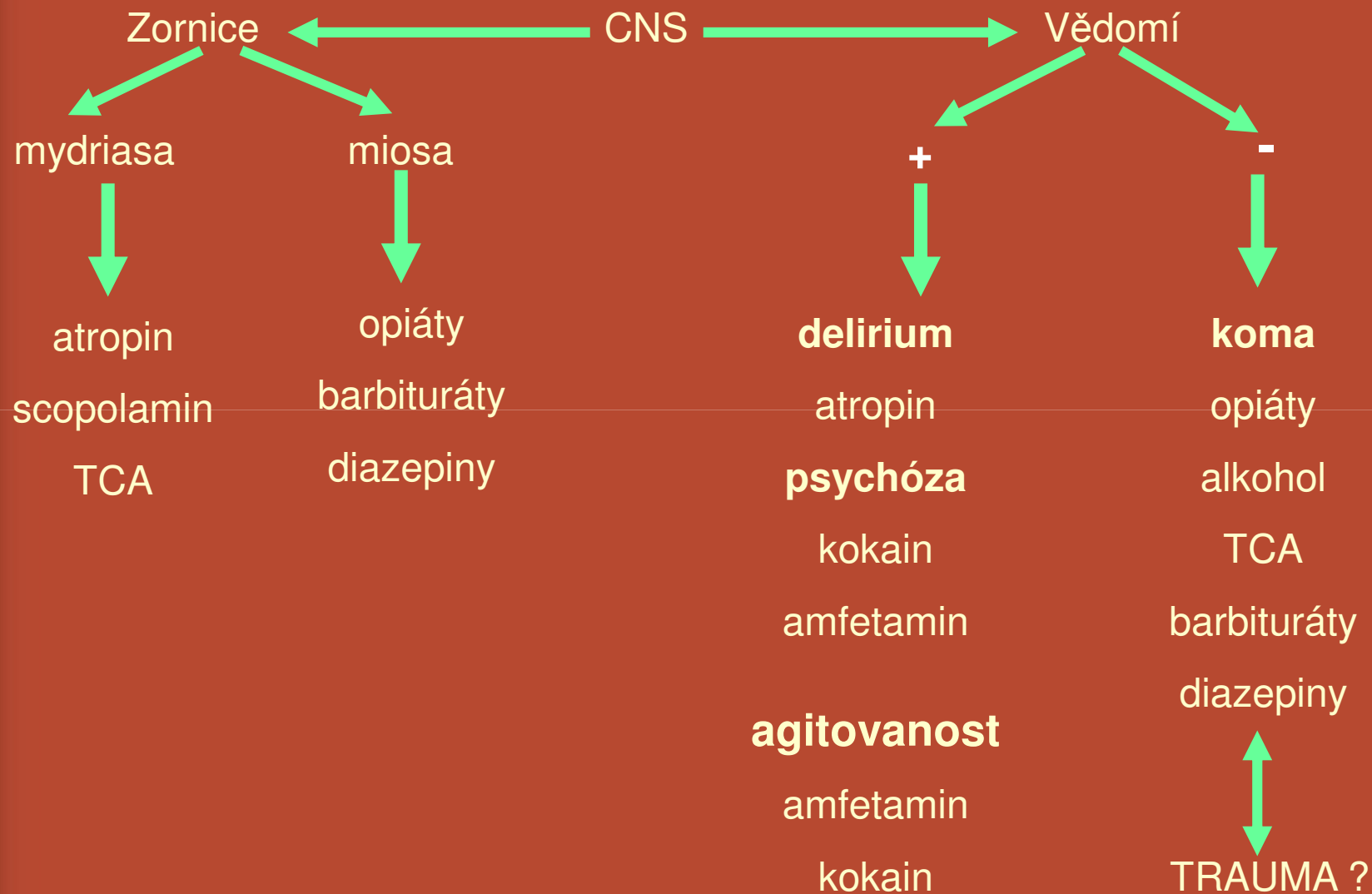
Intoxikace ?



Intoxikace ?



Intoxikace ?



Laboratorní vyšetření

- Rozhodnout, jak výsledek vyšetření ovlivní léčbu a kdy bude výsledek k dispozici
- Negativní výsledek nemusí vyloučit intoxikaci
- V odebraném materiálu je možné najít i léky a metabolity nesouvisející s otravou
- Před diagnózou mozkové smrti je třeba vyloučit přechodnou ztrátu mozkové aktivity při otravě látkami tlumící CNS

Základní biochemická vyšetření

- Osmolalita séra, resp.osmolární gap
 - Osmolalita séra – osmotická účinnost séra, která se rovná součtu koncentrací glukózy, močoviny a natria (2x) v mmol/l
 - Osmolární gap (*rozdíl mezi změřenou a počítanou osmolalitou*) se zvýší v přítomnosti nízkomolekulárních látek jako je etanol, metanol a jiné alkoholy, etyleter, aceton, glykoly a manitol.

Anionové okno

- **Anionové okno** (*anion gap*) je rozdíl zjištěných kationtů a aniontů v séru, plazmě nebo moči
- Pro zjištění příčiny metabolické acidózy
- Čím je okno větší, tím těžší acidóza
- $[Na^+] + [K^+] - ([Cl^-] + [HCO_3^-])$

Otrava metanolem

- *Samotný metanol není toxický*
- *jeho metabolity - kyselina mravenčí a formaldehyd - vedou k metabolické acidóze.*
- *Léčba: blokací alkoholdehydrogenázy*
 - *Etanolem*
 - *Fomepizolem*
- *hemodialýzou*

Základní soubor vyšetřovaných biochemických parametrů

- Na, K, Cl, Ca, P, Mg - sérum, moč
- ABR, laktát
- urea, kreatinin, clearance kreat. N- bilance, kys. močová bilirubin, ALT, AST, GMT, LD, amyláza, lipáza
- cholesterol, TG, glukóza s,m.
- CK, CK-MB, Troponin T, I, myoglobin, CK-MB mass
- CB, albumin, prealbumin, CHE
- CRP, prokalcitonin.
- TSH, hCG.
- Likvorová diagnostika.

Toxikologické laboratorní vyšetření

- Komplexní úkol
- Mezioborová spolupráce, konzultace, komunikace
- Anamnestická data, klinické příznaky
- Aspekty farmakokinetické, biotransformace
- Správné zajištění vzorků
- Adekvátní chemicko-toxikologické řešení
- Adekvátní interpretace toxikologických nálezů

Noxy v toxikologické laboratoři

Anorganické látky, kovy

Kouřové plyny, CO

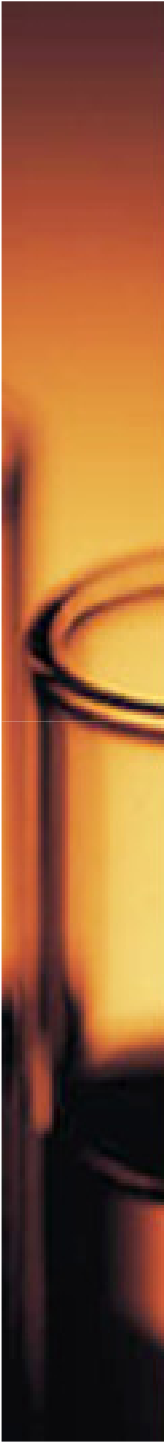
Plynné a těkavé organické látky, alkoholy

Méně těkavé organické látky, glykoly a deriváty

Organické extraktivní noxy, léčiva, návykové látky

Různé formy toxických látek vykazují různou toxicitu

Sloučenina niklu	Forma	Toxicita
Ni	Lesklý kov	Alergie na nikl, niklová dermatitida
NiO	Černý, ve vodě nerozpustný prášek	Potenciální karcinogen
NiSO ₄ , Ni(NO ₃) ₂	Zelené, ve vodě rozpustné krystaly	Nefrotoxicita
Ni(CO) ₄ , tetrakarbonyl	Plynná sloučenina	Prokázaný karcinogen



Akutní intoxikace fluorokřemičitanem sodným (Na_2SiF_6)

- pacient 27 let požití 3–4 lžic bílého prášku Na_2SiF_6
- Hospitalizace po 1,5 h od požití
- Během 6 hodin došlo k rozvoji orgánových dysfunkcí s následkem smrti
- Pacientem uváděné požití množství jedu potvrzuje literární údaje o letalitě dávky Na_2SiF_6 nad 5–10 g nebo 70–140 mg/kg.

Toxikologické laboratorní vyšetření

Materiál

- Krev
- Moč
- Žal. obsah
- Tkáně
- Vlasy
- Sliny
- Pot
- Smolka

Možnosti toxikologických analýz

- Diferenciální diagnostika
 - akutních otrav
- Odhalování abuzu drog
- Kontrola terapie otrav
- Objasňování trestné činnosti:
 - dopravní nehody pod vlivem
 - návykových látek
 - ilegální výroba drog
 - oběti oloupení a znásilnění
- Šetření příčin úmrtí:
 - vraždy, sebevraždy

Klinický výstup

- ARO
- Interna
- Psychiatrie...

Forenzní výstup

- Policie
- Soudy

Toxikologické laboratorní vyšetření

Žádanka na vyšetření

- osobní údaje pacienta
- klinický stav a okolnosti případu
- datum a čas odběru vzorků
- druh a objem vzorků
- doba od aplikace noxy
- předpokládaná škodlivina
- léková terapie před odběrem včetně léčby
- použitá dezinfekce
- adresa žadatele, telefon

Nezbytné informace při podezření na otravu neznámou noxou

Anamnéza a její spolehlivost

Příznaky otravy – nespecifičnost:

- gastrointestinální problémy
- křeče (strychnin, kyanidy, antidepresiva, amfetaminy...)
- halucinace, deliria (LSD, psilocybin, MDMA, DMT, kanabinoidy, atropin, skopolamin, předávkování léčivy...)
- mydriáza nebo mióza (amfetaminy, opiáty...)
- metabolická acidóza (methanol, glykoly...)

Toxikologické laboratorní vyšetření

Vyšetřovaný materiál

- léčiva, drogy: 50 - 100 ml moč
- 50 – 100 ml žaludeční výplach
- 1 zkumavka krve
- stříkačky, tablety, prášky
- těkavé látky: 1 zkumavka krve
moč
- alkohol: 1 zkumavka krve
- oxid uhelnatý: nesrážlivá krev
- glykoly: 1 zkumavka krve, moč
- houby: houba, pokrm, střevní
a žaludeční obsah

Chemická čistota a inertnost odběrových nádob!

Toxikologické laboratorní vyšetření

	krev, sérum	sliny	moč	vlasý
odběr vzorku	invazivní	neinvazivní	neinvazivní	neinvazivní
získané množství	krev 10 ml sérum 1-2 ml	1-5 ml	> 50 ml	50-300 mg
koncentrace látek	nízká převážně parentní látky	nízká převážně parentní látky	vyšší hlavně metabolity	nízká převážně parentní látky
detekční okno	minuty až hodiny	minuty až hodiny	hodiny, dny	měsíce
poznámky		kontaminace potravou kouřením	manipulace se vzorkem falšování	barvení

Detekční okno návykových látek

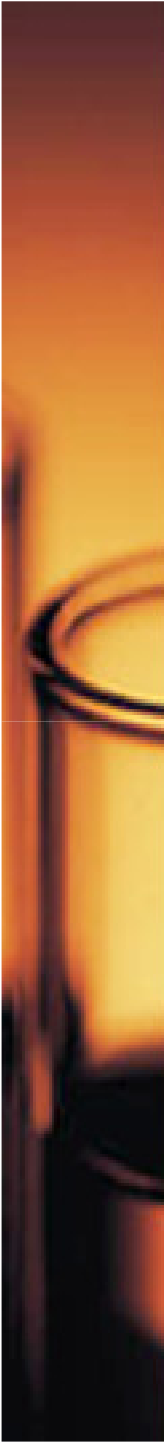
- Většina drog - 3 až 4 dny (kokain, heroin, metamfetamine)
- Marihuana - 10 dní a víc, závisí na užití
- Pokud se vzorek odebírá příliš brzy, nemusí se hladina léku odrazit v tělních tekutinách
- Moč se odebírá 3-5 hodin po požití léku nebo drogy

Odpověď na působení škodliviny

- Stupeň a spektrum odpovědi závisí na dávce, stavu organismu a způsobu podání
- Odchytky od normálního stavu
 - Mohou být molekulární, buněčné, orgánové nebo na úrovni celého organismu - symptomy
- Lokální nebo systémové
- Reverzibilní nebo ireverzibilní
- Okamžité nebo opožděné
- Postupné nebo jednorázové
 - Stupně jedné otravy

Expozice: cesty

- Cesty expozice:
 - Požití (gastrointestinální trakt)
 - Inhalace (plíce)
 - Kůží/místně
 - Inječně
 - intravenózně, intramuskulárně, intraperitoneálně
- Typická efektivita vstupu
iv > inhal > ip > im > požití > kůže



Interakce škodlivin s organizmem

toxikokinetika - působení organismu na látku

**toxikodynamika - působení škodliviny na
organismus**

Toxická látka

Silně lipofilní

Metabolicky stabilní

**Akumulace
v tukové tkáni**

Lipofilní

1 fáze biotransformace

**aktivace nebo inaktivace
oxidace, redukce, hydrolýza**

Polární

2 fáze biotransformace

**inaktivace
konjugační reakce**

Hydrofilní

Hydrofilní

Extracelulární tekutiny

exkrece játry

**cirkulace v plazmě
exkrece ledvinami**

Biotransformace

- metabolická přeměna xenobiotika probíhající nejčastěji v játrech (méně často v mozku, krevní plazmě , plicích, tenkém střevě, ledvinách a kůži)
- snížení lipofility toxické látky → vliv na konc. aktivní formy látky na receptoru
- zvýšení hydrofility toxické látky → snadnější exkrece
- biotransformační reakce jsou enzymaticky katalyzované

Vylučování

ledvinami - pasivně hydrofilní

játry - lipofilní

**plícemi - málo polární těkavé látky (organická
rozpouštědla)**

Otravy olovem

PbO jako sladidlo, vodovodní trubky, olovnatý benzín, akumulátory, barvy, ochrana před radiací, aj.

Pb má schopnost nahradit jiné biologicky důležité prvky (Ca, Fe, Zn) ve vazbě na skupiny -SH, -NH₂, -COOH,... v proteinech a dalších molekulách.

Inhibice

d-ALA – dehydratázy - Poškození syntézy hemoglobinu

NMDA receptorů v mozku - Zhoršení dlouhodobé paměti

Ludwig van Beethoven

Francisco Goya

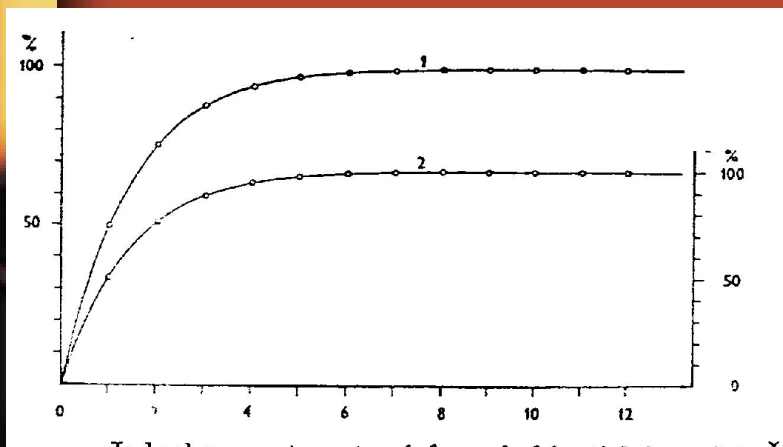
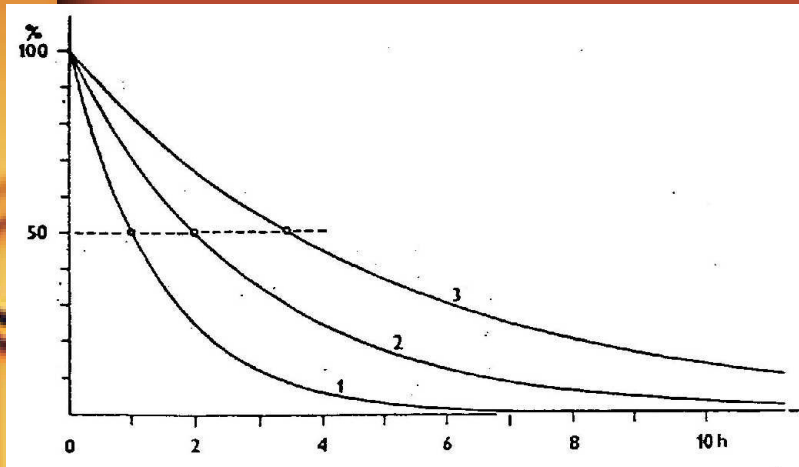
Sir John Franklin

Otravy olovem

- Zdravotnická rodina se akutně intoxikovala z keramické konvice s Pb glazurou, do které si připravovala čaj s citronem, protože nechtěla pít přímo chlorovanou vodu z vodovodu.
- Mladá žena se otráвила Pb užíváním volně prodejného přípravku Femikalp. Sušené indické rostliny mající povzbuzovat životní funkce, které přípravek obsahoval, byly bohužel silně kontaminované olovem.
- Rozsáhlá skupina příbuzných byla extrémně exponovaná olovu, protože si zaměnili červenou práškovou papriku za suřík, což je prášková základová barva (oxid olovnato - olovičitý), která má přesně barvu červené papriky.
- Skupina restaurátorů se dostala do expozice Pb při restaurování 300 let starých nástěnných maleb v klášteře Teplá. Staré historické barvy obsahovaly Pb.

Léčení intoxikovaných osob spočívá především ve vyloučení nakumulovaného olova z organismu pomocí injekcí chelátu, které uvolní Pb z depa v kostech a vyloučí ho močí.

Farmakokinetická teorie



Matematické vyjádření pohybu léčiva

– Přímé podání léku

- injekce

- infuze

– Jednokompartmentový
model

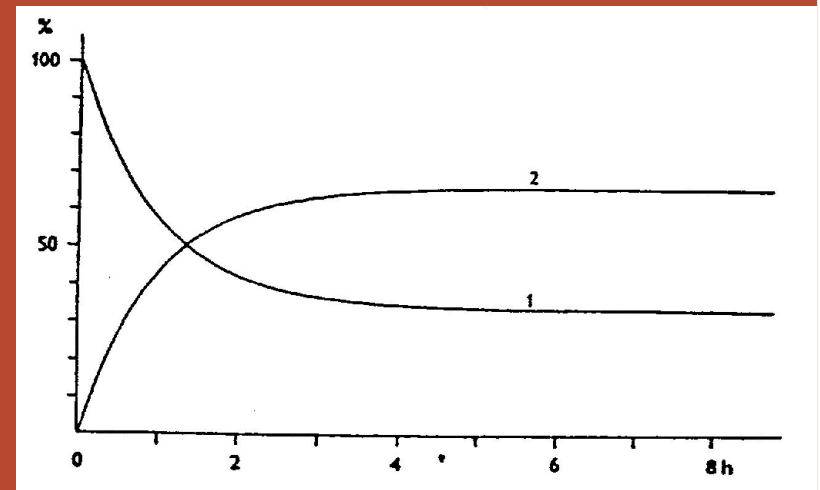
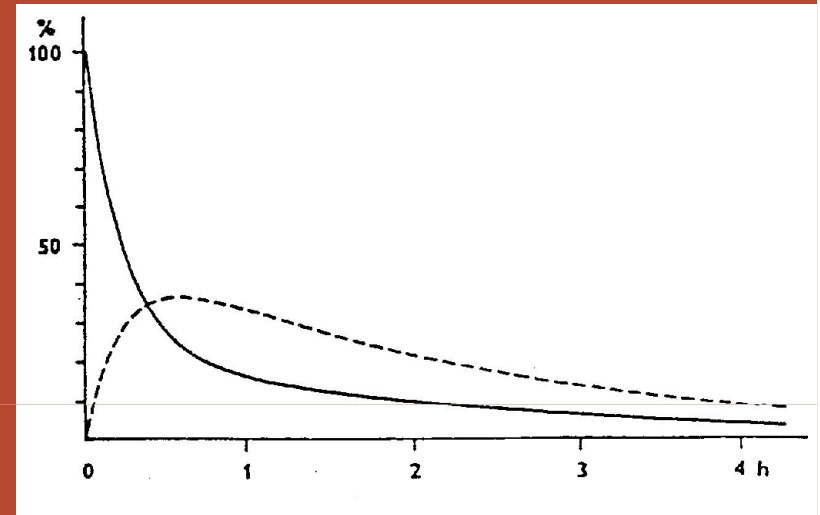
- homogenní rozptýlení
molekul v distribučním
prostoru

Farmakokinetická teorie

- Extravaskulární podání léku -
stejně pro jedno- i
dvoukompartmentový model
 - perorální, podkožní, nitrosvalové
 - nástup maxima nezávisí na
koncentraci léku, ale na rychlosti
přestupu
 - maximální koncentrace závisí na
podané koncentraci

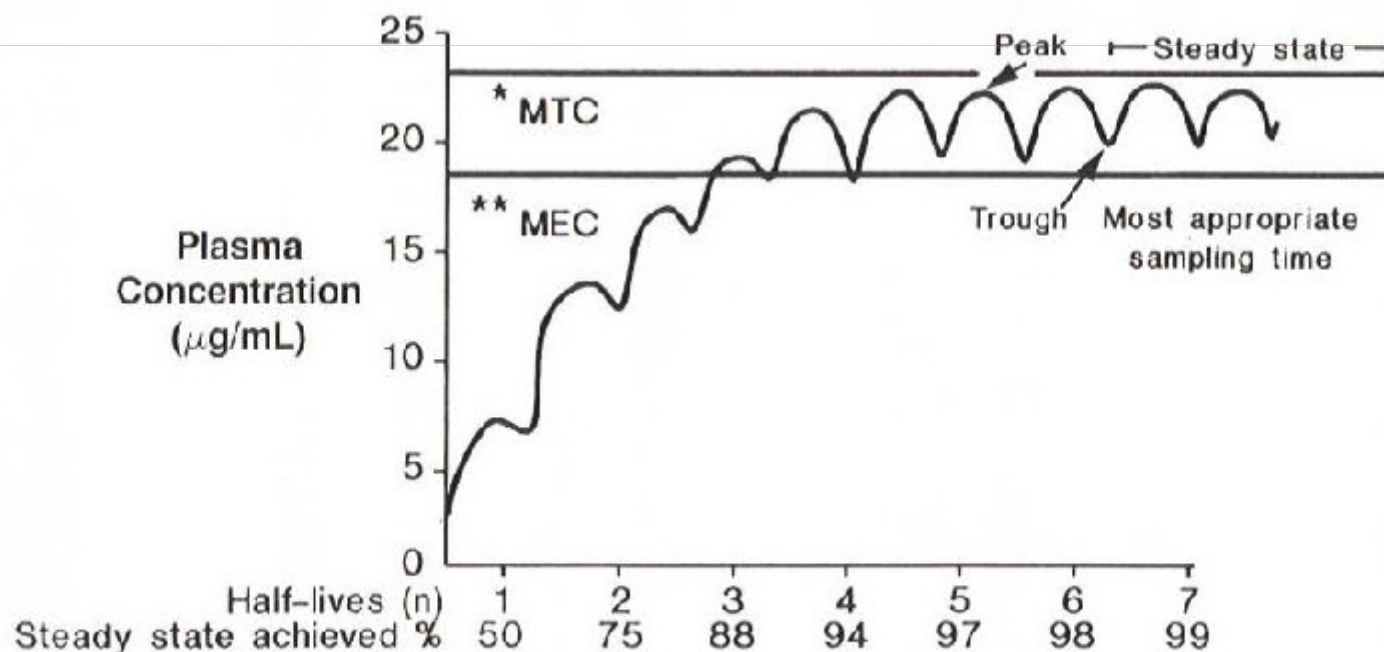
Farmakokinetická teorie

- Dvoukompartmentový model
 - **injekce** - fáze distribuční a eliminační
 - **infuze** - dojde k ustálenému stavu



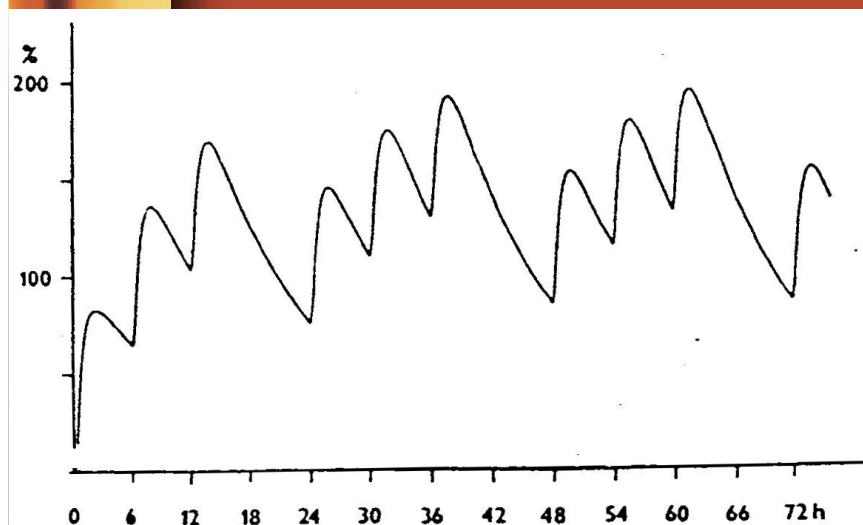
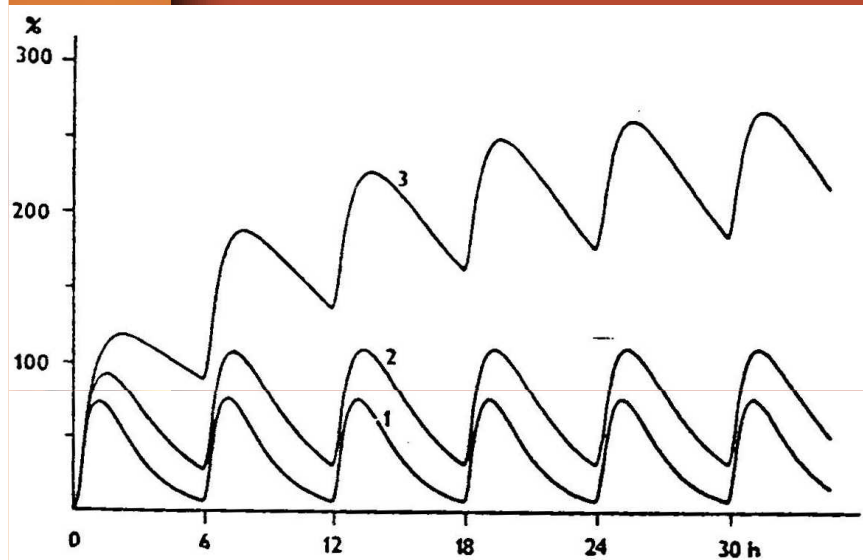
Dosažení rovnovážného stavu

Dose-Response Curve After Repeated Oral Administration of Drug



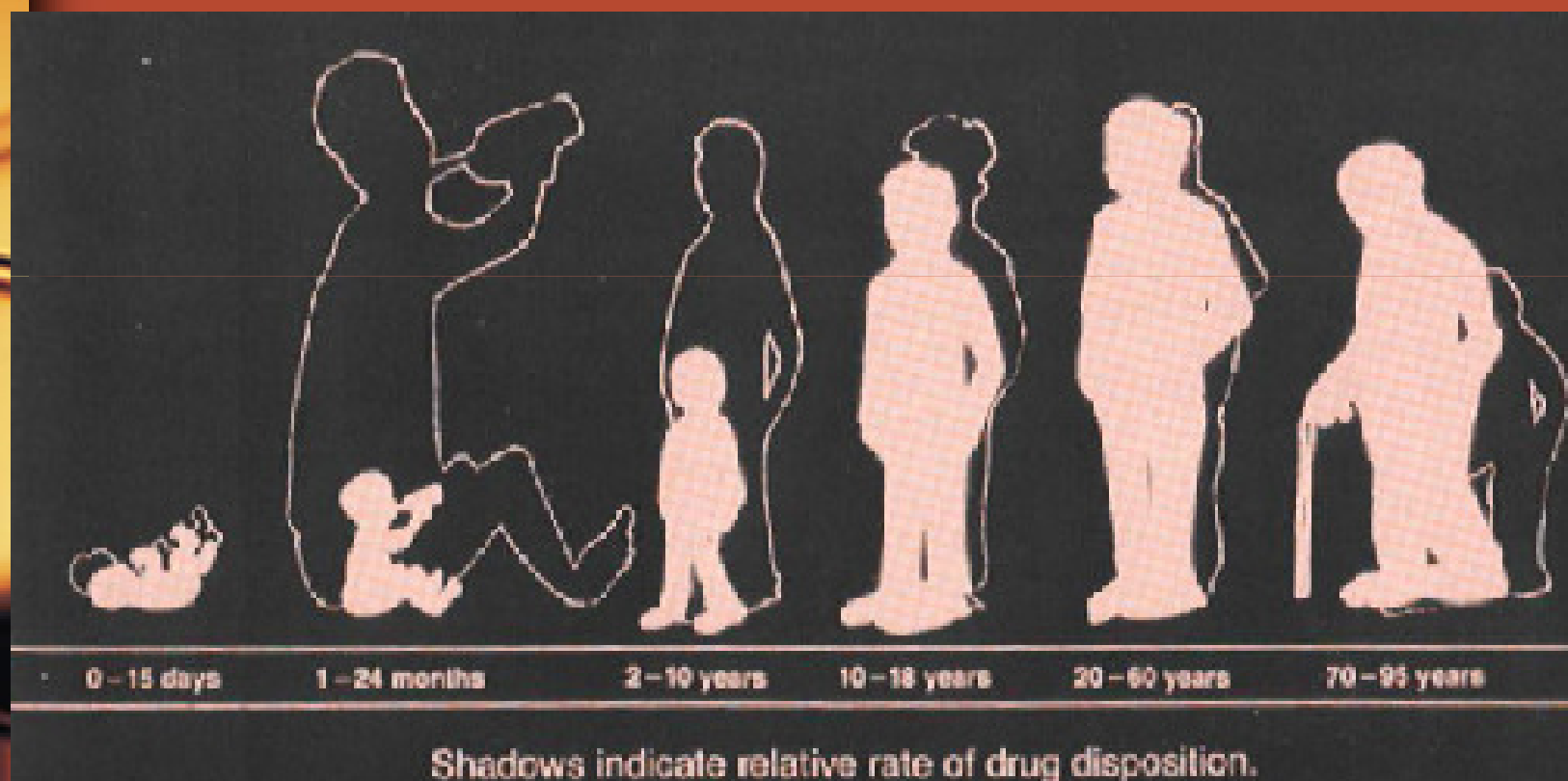
$^* \text{MTC}$ = Min. toxic conc.
 $^{**} \text{MEC}$ = Min. effective conc.

Opakované podání léku



- Biologický poločas
– vliv na kumulaci léčiva v distribučním prostoru
- 1.dávka - nárazová
další jsou udržovací
- Nepravidelné dávkování

Poměr odbourávání léků dle věku



Metody stanovení lékových hladin

- SEPARAČNÍ

- TLC
- HPLC
- GC

- IMUNOCHEMICKÉ

- RIA
- FIA
- FPIA
- EMIT
- DELFIA
- ELISA

Vyšetřované typy léčiv

- ANTIEPILEPTIKA
ANTI KONVULSIVA

- CARBAMAZEPIN
- ETHOSUXIMID
- PHENOBARBITAL
- PHENYTOIN
- PRIMIDON
- VALPROOVÁ KYS.
- CLONAZEPAM

ANTIBIOTIKA

AMINOGLYKOSIDY

AMIKACIN
DIBEKACIN
GENTAMICIN
KANAMYCIN
NETILMYCIN
STREPTOMYCIN
TOBRAMYCIN

OSTATNÍ

CHLORAMPHENICOL
VANCOMYCIN

Vyšetřované typy léčiv

- KARDIOTONICKÉ
GLYKOSIDY

- DIGOXIN
- DIGITOXIN

- ANTIARYTMIKA

- CHINIDIN
- LIDOCAIN
- DISOPYRAMID
- PROCAINAMID
- PROPRANOLOL

- ANTIASTMATIKA –
BRONCHODILATANCIA

- THEOPHYLLIN

- ANALGETIKA,
ANTIPYRETIKA

- ACETAMINOPHEN
- ACETYLSALICYLOVÁ
Kyselina

- ANTINEOPLASTIKA
(CYTOSTATIKA)

- METHOTREXAT

Role toxikologa

- Musí identifikovat jeden z tisíců možných léků a jedů
- Musí najít množství látky od nanogramu po mikrogram rozložené v celém těle
- Ne vždy hledá příslušnou chemikálii, ale často jsou to metabolity dané látky (např. heroin → morfin během sekund)

Systematická toxikologická analýza STA

Systém logicky na sebe navazujících analytických postupů

3 fáze toxikologické analýzy neznámých tox

1. screening = záchyt = detekce

2. identifikace chemického individua

3. stanovení = kvantifikace známé látky

> průkaz

screening znamená vždy suspektní záchyt, není nikdy průkazem či stanovením

Systematická toxikologická analýza STA

screeningové (vyhledávací) metody – imunochemické
– chromatografické

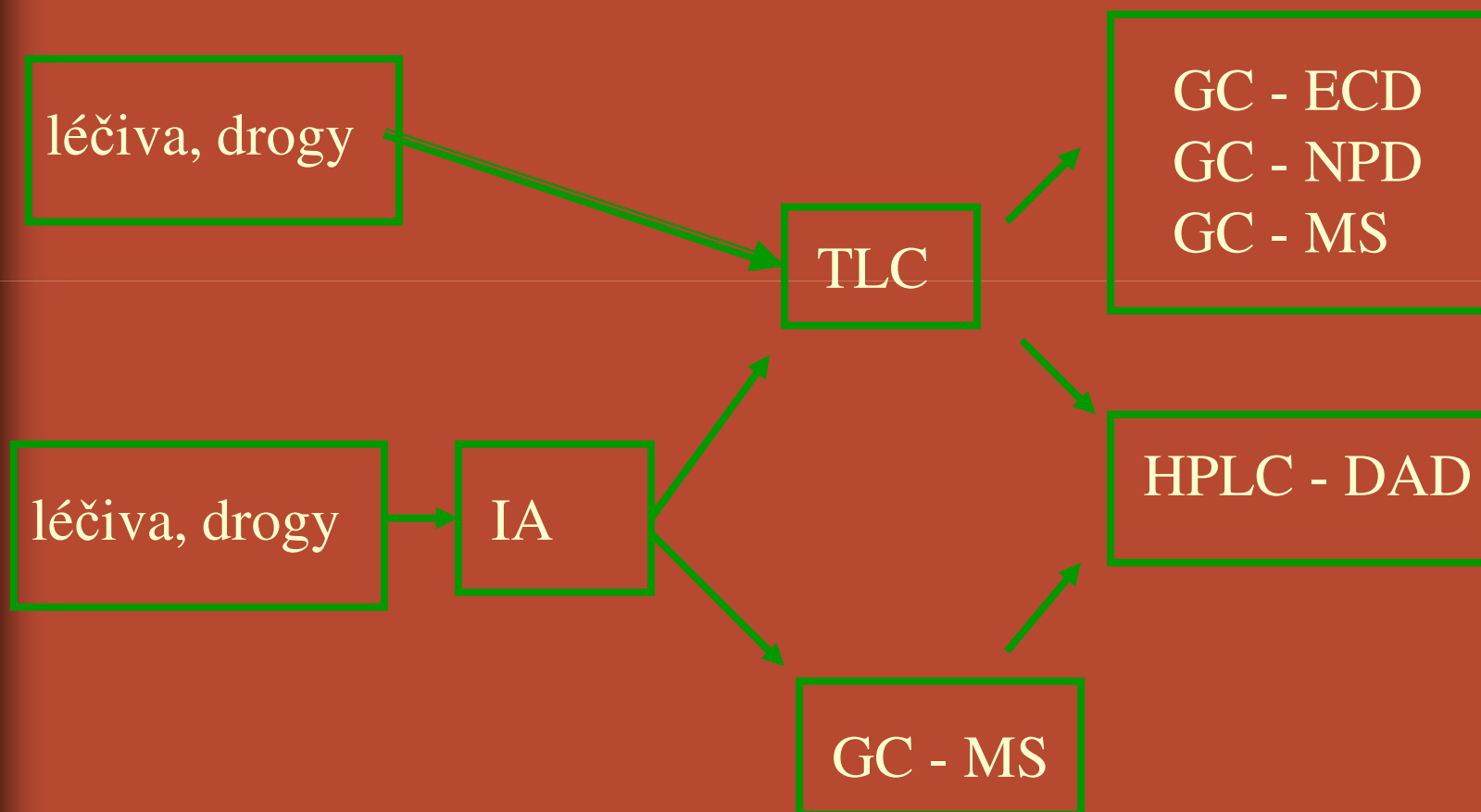
potvrzovací identifikační metody – chromatografické

Průkaz jedu – založen na kombinaci metod imunochemických, chromatografických a spektrálních – *základní princip toxikologie: potvrzování výsledků navzájem nezávislými metodami*

Klinický a forenzně toxikologický standard současnosti:

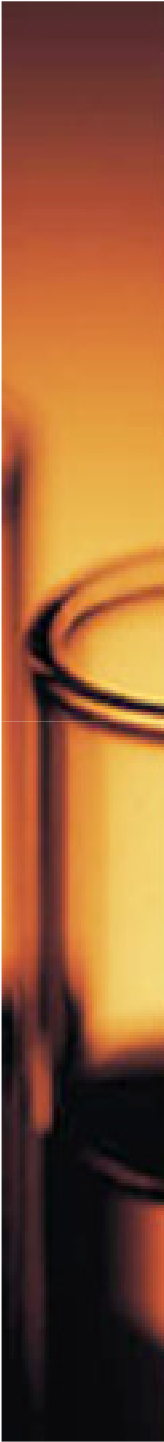
metody hmotnostní spektrometrie v tandemu s plynovou nebo kapalinovou chromatografií GC-MS, LC-MS

Systematická toxikologická analýza STA



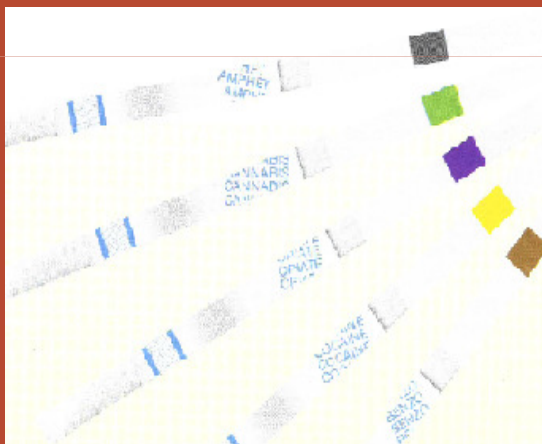
Rozdělení vyšetřovacích metod

- **Orientační**
 - testovací proužky, kazety, nádobky pro moč
 - zvláštní kazety pro sliny
- **Semikvantitativní**
 - některá imunochemická stanovení
- **Rutinní stanovení**
 - automatické analyzátory, CLIA, FPIA
- **Konfirmační**
 - GC/MS



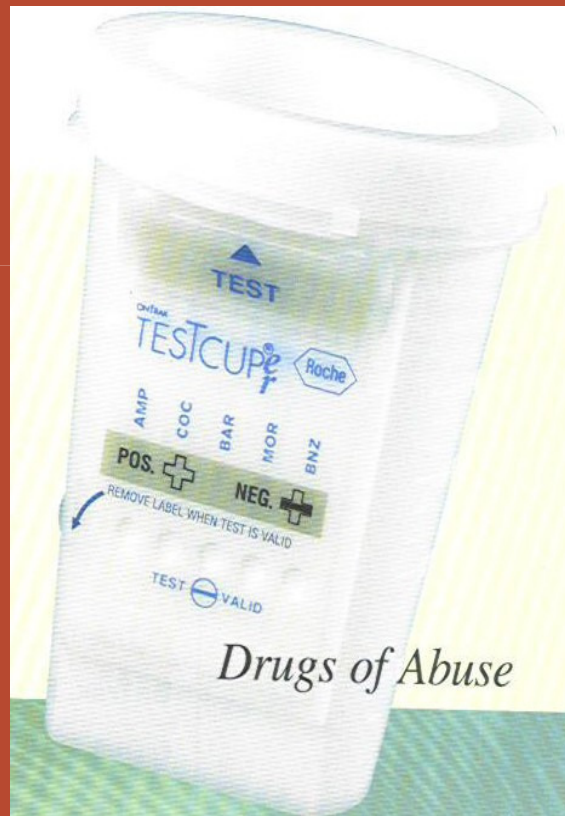
Orientační metody

Testovací proužky



- **Rychlá detekce pro**
 - Amfetaminy
 - Benzodiazepiny
 - Kokain
 - Konopí
 - Opiáty

Test v odběrové nádobce

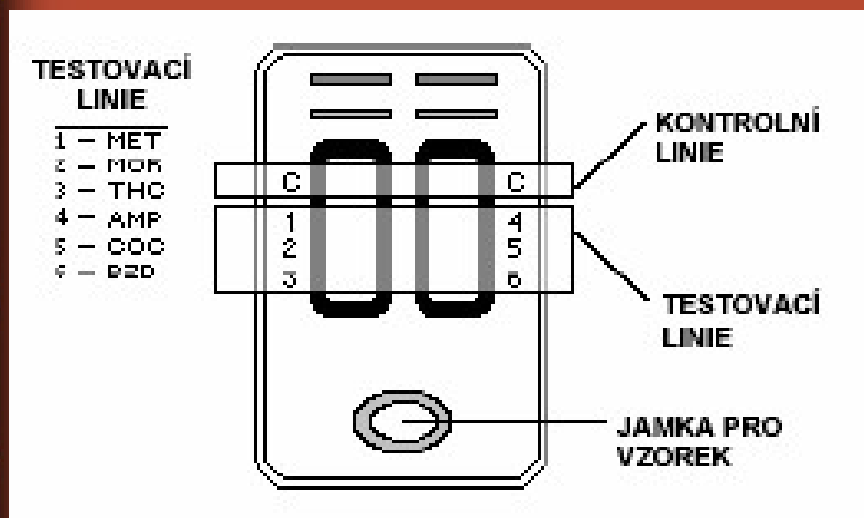


- **Detekce následujících drog**
 - Amfetaminy
 - Barbituráty
 - Benzodiazepiny
 - Kokain
 - Morfin
 - PCP
 - THC



Monotesty

- jednoduché provedení
- možnost uchování výsledku
- nutnost číst dobře návod

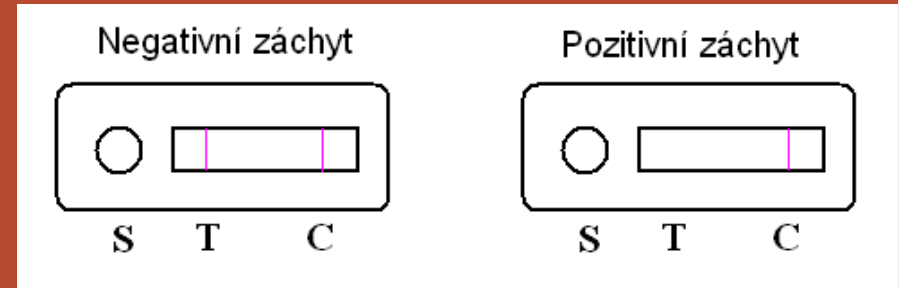


Terénní imunochemické testy

S – značená protilátka

T – vázaná droga

C – kontrola validity testu



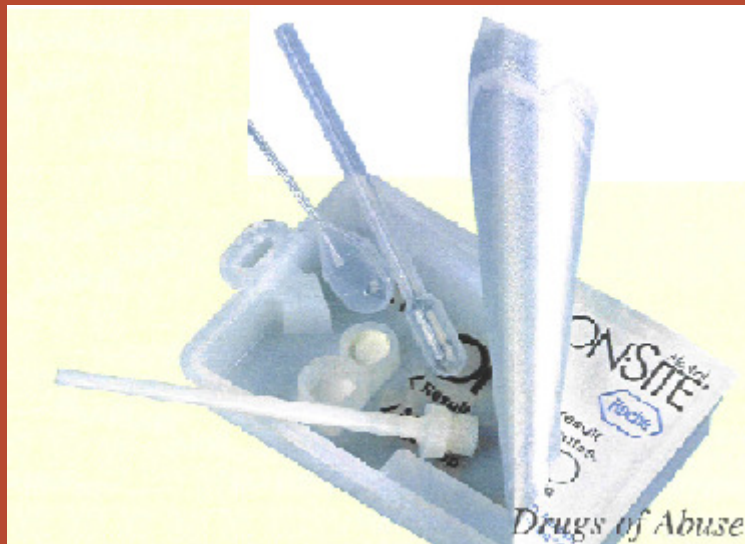
Vývoj terénních kazetových testů „point of care“ původně pro moč, později také sérum, sliny

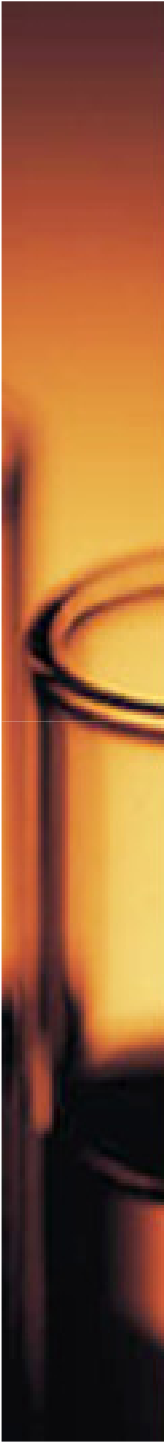
Pevné hodnoty „cut off“

Za nepřítomnosti nebo nedostatku drogy ve vzorku moče vytvoří protilátka imunokomplex (precipitát) se značenou drogou vázanou v místě testu T.

Vyšetření ve slinách

- Stanovení alkoholu ve slinách
- Citlivost od 0,02% alkoholu v krvi





Imunoanalýza

Imunochemická stanovení



Značení antigenu (případně protilátky)

- enzymem (EMIT)
- geneticky upraveným enzymem (CEDIA)
- Radioimunoanalýza (RIA, IRMA)
- Enzymoimunoanalýza (ELISA, EIA, MEIA)
- Fluorescenční (FIA)
- Chemiluminiscenční (CLIA)

Imunochemické metody

Typy protilátek:

- cíleně připraveny proti determinantní skupině, která je specifická jen pro jedno chemické individuum např.

fenobarbital

- cíleně připraveny proti chemické struktuře, která je společná pro více strukturně chemicky příbuzných látek např. **barbituráty**

Imunochemické stanovení na automatickém analyzátoru

- FPIA - fluorescenční polarizační imunoanalýza
- provádí 60 vyšetření za hodinu



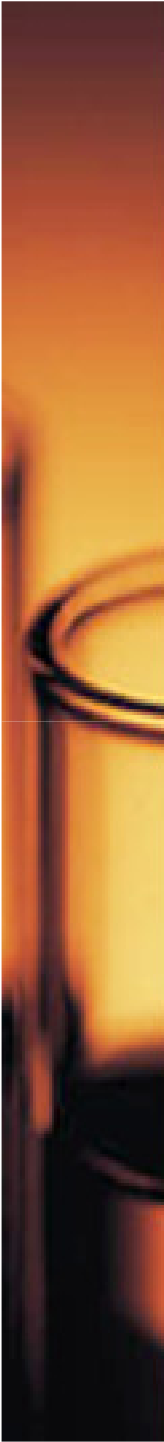
- *terapeutické monitorování hladin léčiv – TDM*
- dovolují rychlý klinický zásah
- *diferenciální diagnostika akutních intoxikací*
- paracetamol – hepatotoxicita s dlouhou latencí, poškození
lze odhadnout v prvních 12 hod po dávce
- digoxin – kardiotoxicita
- theofylin – astmatické onemocnění
- carbamazepin, fenobarbital aj.– náhodné či úmyslné požití
- *diferenciální diagnostika pro skupinový záchyt léčiv a drog při akutních intoxikacích a toxikománii*
tricyklická antidepresiva, barbituráty, benzodiazepiny
kanabinoidy, budivé aminy, opiáty, kokain

Imunochemické metody

- cílený imunochemický screening nemusí zjistit všechny významné noxy ve vyšetřovaném případě (FN)
- velké množství často zneužívaných nox leží mimo oblast běžných imunochemických screeningových vyšetření (FN)
- strukturně chemicky odlišné noxy a jejich metabolity ve vysokých koncentracích mohou při screeningových vyšetřeních reagovat (FP)
- screeningové metody mohou sloužit pro zaměření na další analytické postupy – vstupní náhled na soubor nox
- uvážení možností imunochemických metod a správná interpretace výsledků slouží k rychlému řešení akutních intoxikací

Korelují sérové hladiny s akutní toxicitou?

- Sérové hladiny nejsou hladiny v tkáni
- Sledování hladiny noxy spolu se sledováním: arteriálního pH, klinického stavu



Chromatografické techniky

Chromatografie

- kvalitativní informace
- s příslušnou koncovkou i kvantitativní informace
- distribuce složek směsi mezi mobilní a stacionární fází
- doba zdržení složky závisí na velikosti její interakce se stacionární fází
- základní dělení podle mobilní fáze:
plynová (GC)
kapalinová (LC)

Dělení chromatografie podle uspořádání

CHROMATOGRRAFIE V PLOŠNÉM USPOŘÁDÁNÍ

- sorbent v tenké vrstvě
- papírová chromatografie (PC)
- chromatografie na tenké vrstvě (TLC)
- detekce složek – často specifické barevné reakce
- základní údaje – vzdálenost skvrny od startu a vzdálenost mobilní fáze od startu
- možná další analýza skvrn

Dělení chromatografie podle uspořádání

SLOUPCOVÁ CHROMATOGRAFIE

- stacionární fáze v koloně
- za kolonou detektor (spektrofotometr, refraktometr, vodivostní detektor, ...)
- základní údaje – doba zdržení v koloně (retenční čas) a intenzita signálu
- vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) $\Rightarrow$ zavedení nových sorbentů s menšími částicemi a vyšší mechanickou odolností + práce za zvýšeného tlaku

Účel izolace léčiv a drog

- oddělení analytů od nežádoucích interferujících látek z matrice (proteinů a lipidů, endogenních či exogenních součástí vzorku)
- zakoncentrování analytů v extraktu pro snížení mezí detekce
- redukce nečistot v extraktu pro zvýšení citlivosti důkazu analytu
- kompatibilita s chromatografickým systémem – změna matrice

analyt v séru → analyt v organické fázi

Izolace léčiv a drog z biologického materiálu

Extrakce kapalina – kapalina

LLE, liquid – liquid extraction

Výhody:

- extrahuje široké spektrum organických látek
- jednoduchá na provedení

Nevýhody:

- špinavé extrakty
- tvorba emulzí
- časově náročná
- velký objem rozpouštědel
- variabilní výtěžnost

Extrakce kapalina-kapalina

Standardní frakční extrakce léčiv a drog

50 ml moč, žaludeční obsah
pH=3.0, 100 ml diethyléter

kyselé a neutrální analyty EK

zbytek vodné fáze
pH=10.0, 100 ml diethyléter

bazické a neutrální analyty EA

zbytek vzorku moče (20 ml)
hydrolytické štěpení konjugátů

hydrolyzát, pH=7.0
100 ml diethyléter

konjugované metabolity EH

Izolace léčiv a drog z biologického materiálu

Extrakce na tuhých fázích

SPE, solid phase extraction

Výhody:

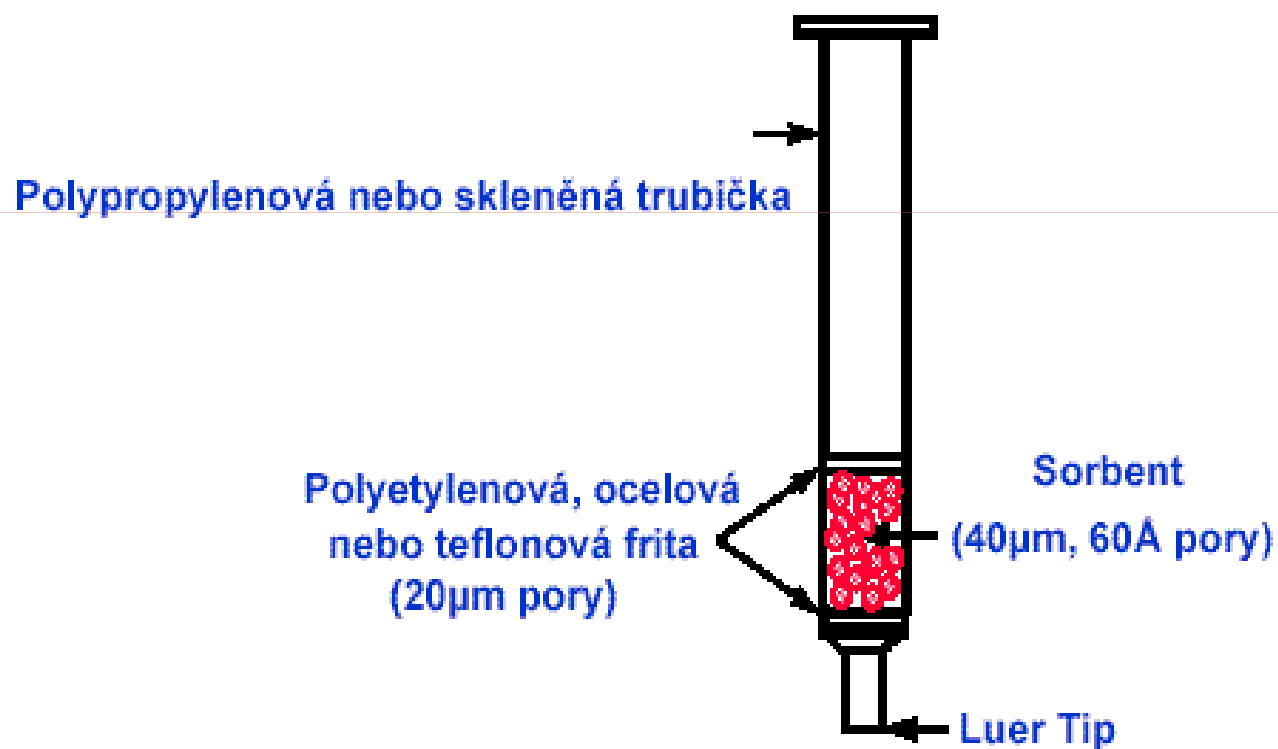
- selektivní
- možnost zpracování více vzorků
- reprodukovatelné výsledky
- jednoduchá na provedení
- časově nenáročná
- malá spotřeba rozpouštědel

Nevýhody:

- proměnlivost kvality sorbentu při výrobě

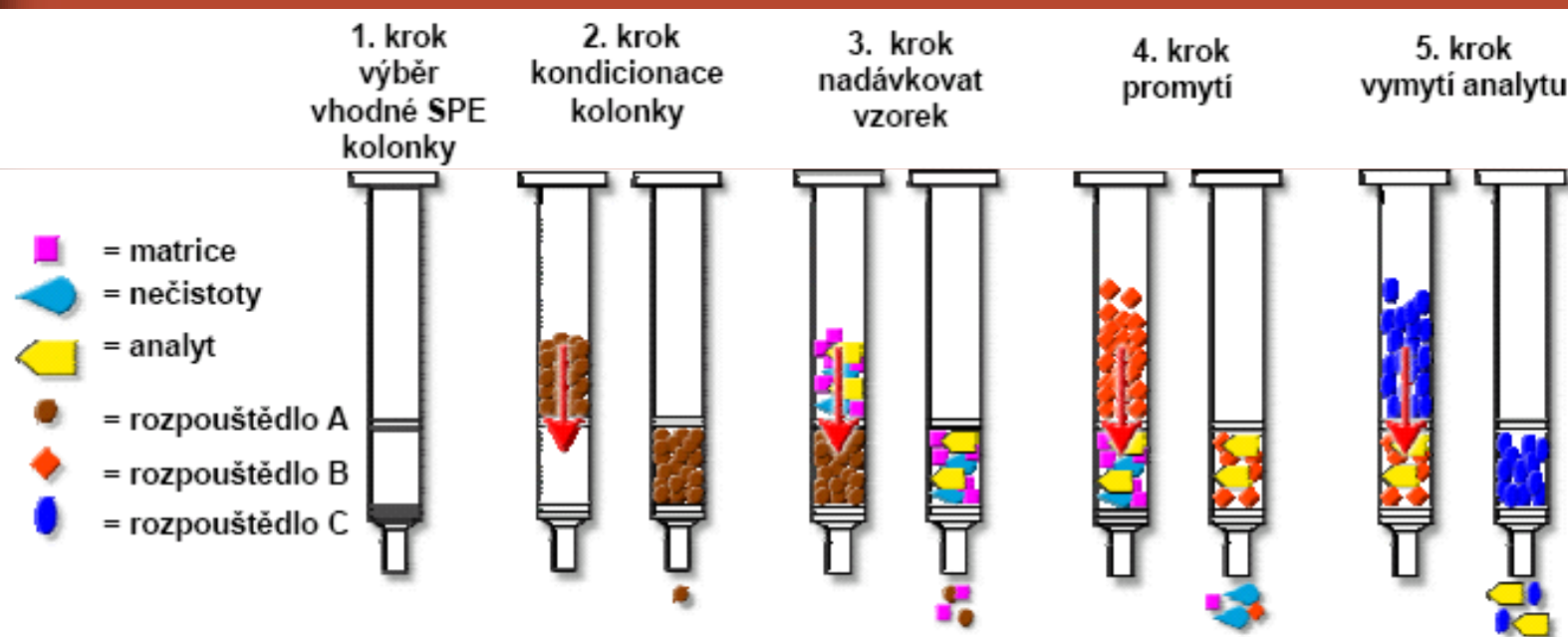
Extrakce SPE

Výběr SPE kolonky



Extrakce SPE

Kroky SPE



Izolace léčiv a drog z biologického materiálu

Derivatizace analytů

- změna fyzikálních a chemických vlastností analytů
- zvýšení těkavosti
- zvýšení stability
- zlepšení chromatografických vlastností (polarita)
- zvýšení citlivosti (detekovatelnosti)
- změna matrice

Screeningové metody TLC

Chromatografie na tenké vrstvě TLC

Využívá princip různé pohyblivosti v reakčním systému:

- dělení směsi tox mezi stacionární a mobilní fázi

Adsorpční a rozdělovací chromatografie

Využívá princip extrakčního chování tox – dělení na látky zásadické, kyselé a neutrální

- UV a barevné detekce činidel

Jednoduchá na provedení, rychlá

Vhodná pro intoxikace, záchyt vyšších koncentrací tox

Finančně nenáročná

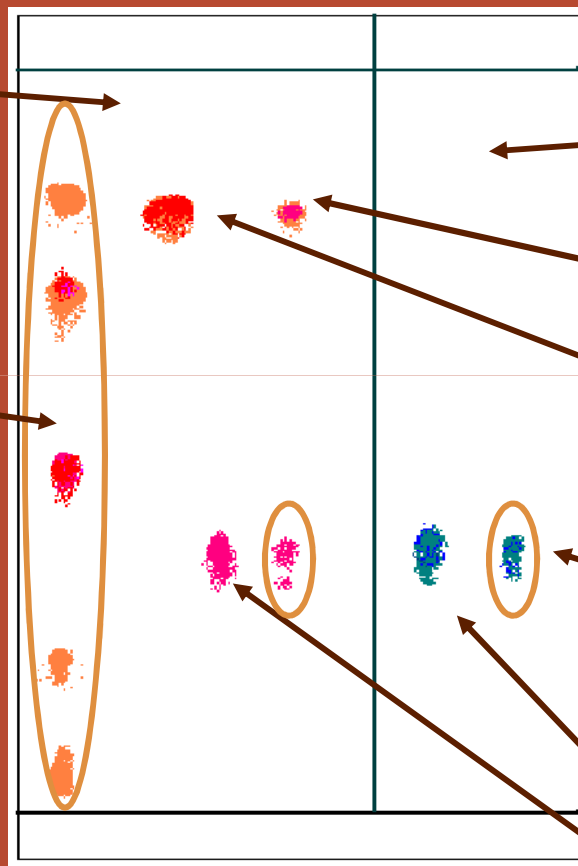
TLC

intoxikace kokainem a extází

TLC chromatogram – analýza 50 ml moč

díl chromatogramu detekovaný Dragendorfovým činidlem (směs KI a $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$)

AtKFAD



díl chromatogramu detekovaný Marquisovým činidlem (H_2SO_4 + formaldehyd)

kokain - nález

kokain - standard

extáze - nález

extáze - standard

Mobilní fáze:
 EtOAc-EtOH-NH_3 (36:2:2)

Plynová chromatografie se specifickou detekcí GC-NPD

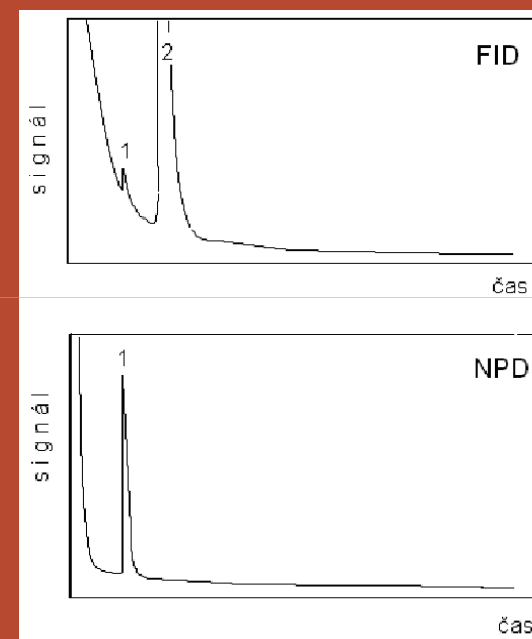
Plynová chromatografie – značná separační účinnost

- Menší objemy vzorků ve srov. s TLC
- Větší nároky na čistotu extraktů

Specifická detekce NPD:

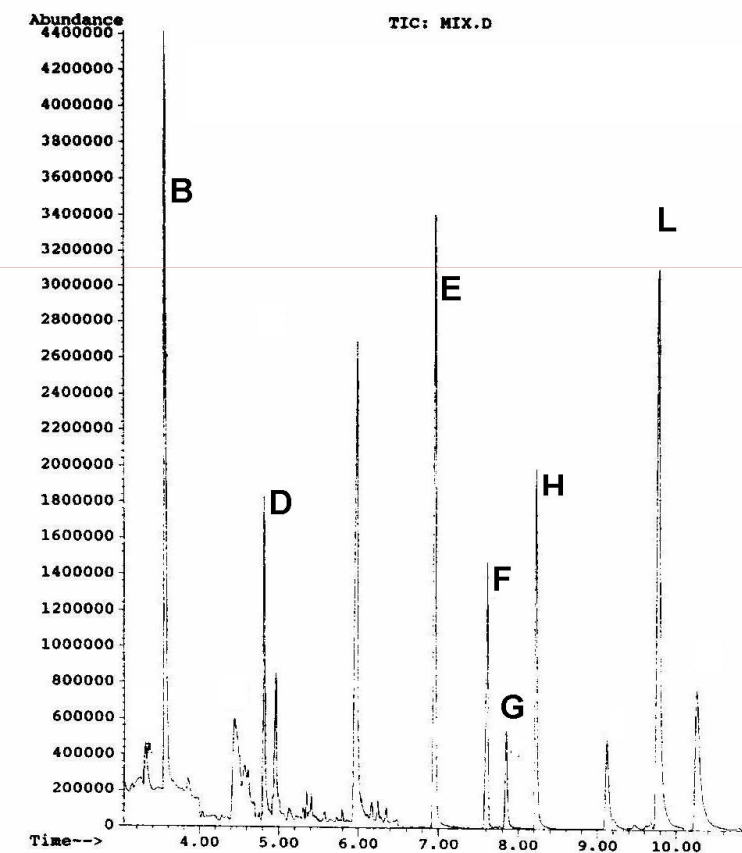
*pro látky s dusíkem či fosforem,
většina léčiv a drog, alkaloidy aj.*

- Potlačen signál rozpouštědla
- Retenční charakteristika noxy
- Nepostačuje k identifikaci neznámé noxy
- Možné využití jako screeningová metoda



Chromatogram

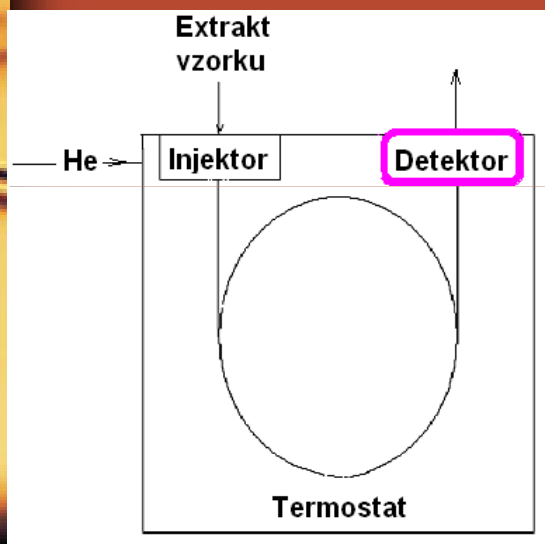
- B – Amphetamine
- D – Extáze
- E – EDDP
- (metabolite of methadone)
- F – Methadone
- G – Cocaine
- H – Cocaethylene
- L – THC



GC –MS metody

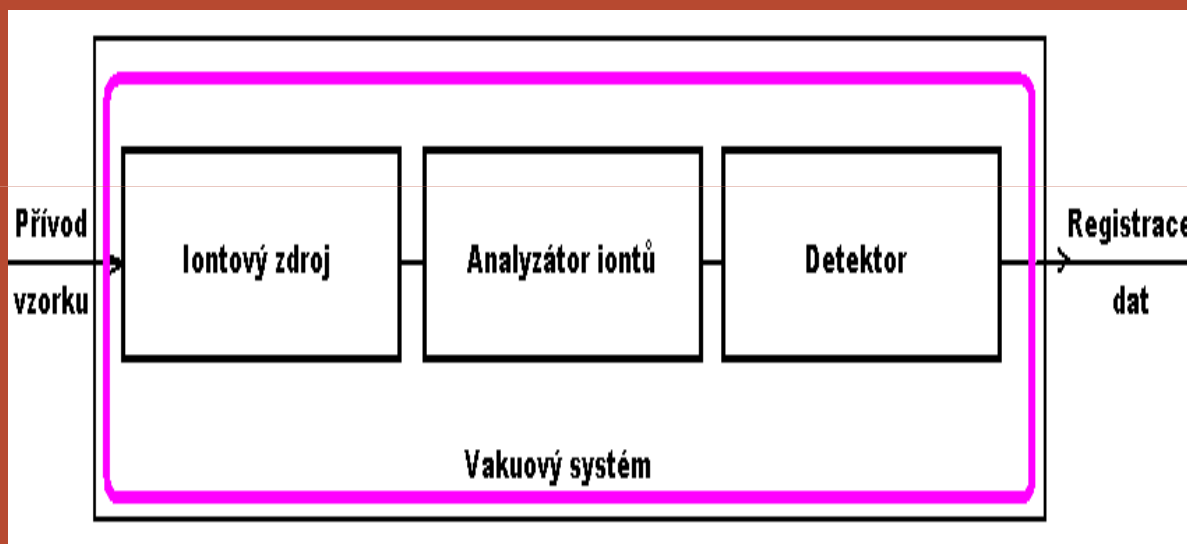
- plynová chromatografie – separační metoda,
- hmotnostní spektrometrie – identifikační metoda
- reprodukovatelné retenční parametry, mezilaboratorní přenos retenčních dat, databáze retenčních indexů
- velká separační účinnost GC kapilár
- polární a termolabilní látky – derivatizace
- diskriminace transportu velkých molekul z injektoru do místa detekce
- velká specifita hmotnostních spekter
- **hmotnostní spektra látek jsou standardem pro identifikaci neznámých látek v toxikologii**

Plynový chromatograf s hmotnostní detekcí GC-MSD



GC

SEPARACE

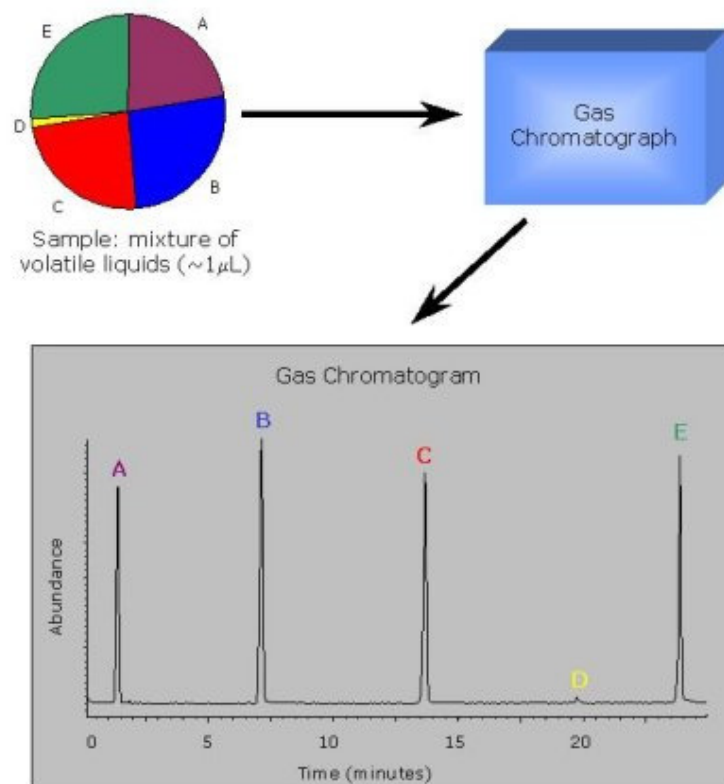


MSD

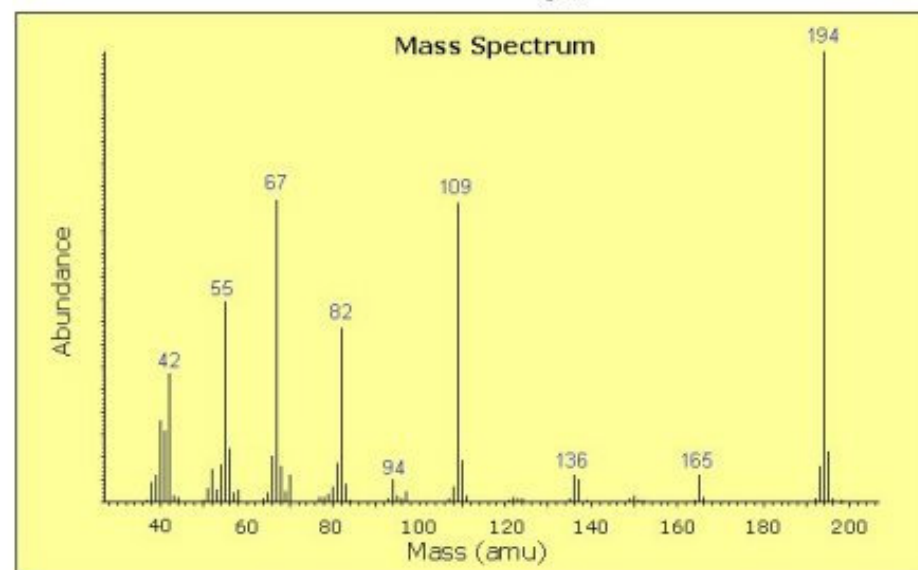
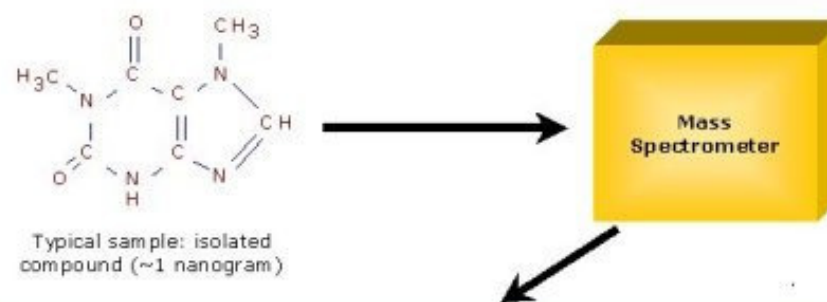
DESTRUKČNÍ DETEKCE

GC-MS

Gas Chromatography



Mass Spectrometry



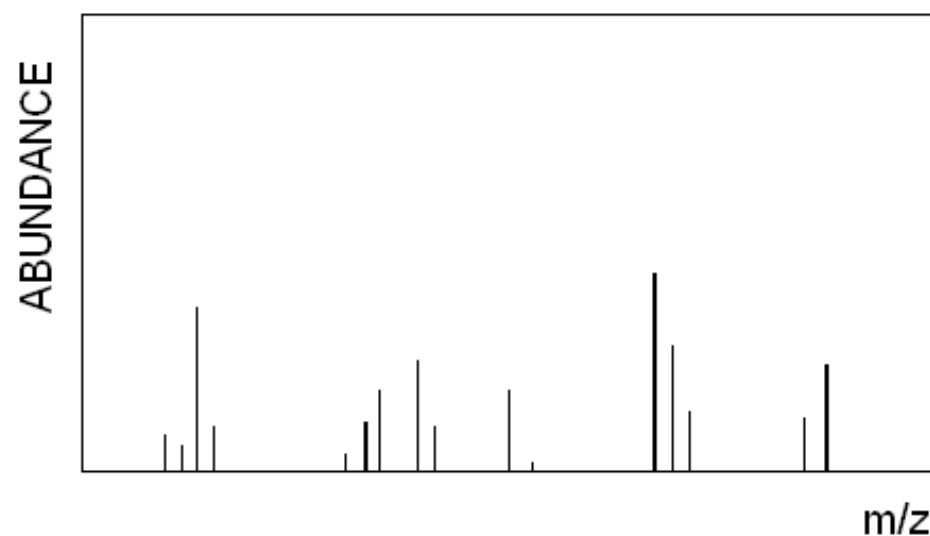
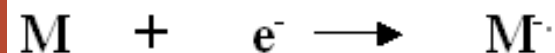
Hmotnostní spektra

Reprodukovatelná fragmentace vstupujících molekul do iontového zdroje dle energie strukturálních vazeb

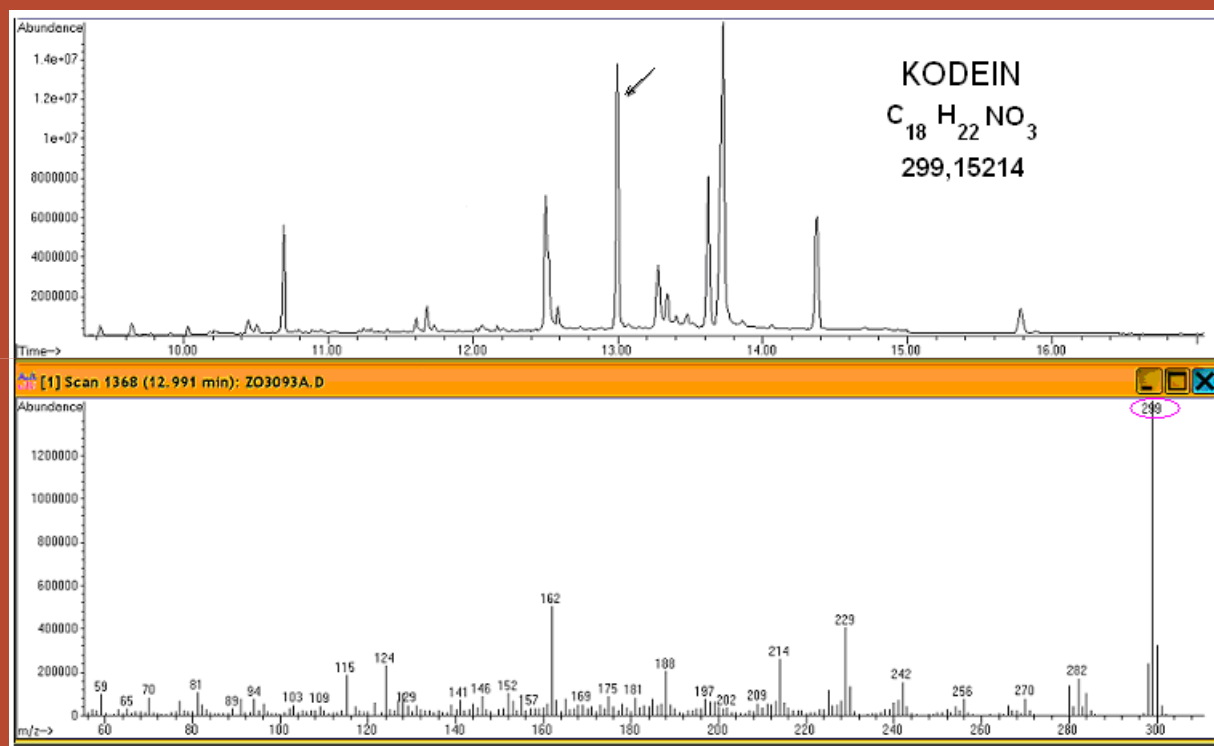
Databáze spekter – spektrální knihovny

Ionizace nárazem elektronů :

m/z efektivní hmota iontu



Tandemová plynová chrom. s hmotnostní detekcí GC-MS



Kodein: M⁺ (299) kvazimolekulární ion

Toxikologické analýzy

Dnešní analytické metody:

Typ metody	Některé varianty
IA	EMIT, FPIA, CEDIA, KIMS.....
TLC	UV, detekce chemická
HPLC	Refraktometrie, EC, UV, DAD
LC-MS, LC-MS/MS	ESI, APCI
GC	TCD, FID, NPD, ECD
GC-MS, GC-MS/MS	EI, PICI, NCI

Forenzně toxikologický standard pro organické látky:
chromatografie v tandemu s hmotnostní spektrometrií
(WADA, SOFT, TIAFT)

Dechové testy

- Alkohol test představuje detekční trubičku s náplní pro jednorázové použití. Dochází ke změně zbarvení náplně. Podle intenzity zbarvení se po 1 minutě od naplnění měrného sáčku odečítá množství alkoholu.
- Rozmezí funkčnosti alkohol testu je 0,3 – 1,5 ‰. Pod 0,3 ‰ alkohol test nereaguje.



- digitální profesionální analyzátor detekující přítomnost alkoholu v těle.
- integrovaný citlivý polovodičový plynový senzor citlivý na molekuly ethanolu
- 0.00 až 2.00 ‰

Testování na alkohol v krvi

- Plynová chromatografie
 - Může měřit etanol v širokém spektru vzorků
 - Odliší etanol od jiných alkoholů, aldehydů a ketonů
 - Dvě obvyklé metody
 - Dynamické dávkování - head space
 - Přímý nástřik

Otravy CO

- CO je jedovatý bezbarvý plyn
- K otravám dochází v uzavřených nevětraných místnostech, při nedokonalém hoření
- CO má silnou afinitu k hemoglobinu - karbonylhemoglobin (CoHb), znemožněn přenos kyslíku z plic do tkání
- Vazba CO na hemoglobin je 200x silnější než vazba kyslíku
- Jeho odstranění z krve trvá až dny

Příznaky otravy

- Při přeměně 10-25 % hemoglobinu na karbonylhemoglobin - bolest hlavy, závrať, slabost, dezorientace, otupeným myšlením, překrvením ve tváři a poruchami vidění
- 30-50 % COHb - zmatenost, hyperventilace, dysrytmie, zvracení, ospalost až bezvědomí.
- Nad 50 % - tkáňová hypoxie, kardiovaskulární dysfunkce, závažná acidóza, křeče, poruchy dechu, šokový stav, kóma, až smrt.
- U velmi těžkých a smrtelných stavů mají pacienti rty, tváře zvláštní světle červený odstín, COHb - karmínově červený

Otrava kouřovými plyny s převahou CO₂

- **Lehčí případy:** euforie, neklid, ztráta soudnosti, ospalost
- **Postupně větší útlum s bezvědomím až smrt**
- Cyanóza nebývá pravidlem
- **CO₂ je těžší než vzduch –malé děti!**
- Vinné sklepy a „psí jeskyně“
- **Diagnostika otravy kouřovými plyny**
 - – při bezvědomí různé etiologie hypoventilace = vysoké etCO₂
 - často nekoreluje klinická tíže otravy a laboratorní výsledky (vyjma vysokých koncentrací CO)

Otrava kouřovými plyny s převahou CO₂

- Vyšetření krevních plynů, COHb, laktát, CK, LD, AST, myoglobin a kardiální enzymy (EKG!)
- Ostatní složky kouřových zplodin se běžně nestanovují
- V reálném životě **převažuje CO₂**, či spíše **kombinované otravy CO/ CO₂**
- Řada otrav je diagnostikována chybně (otrava alkoholem, „čistá“ otrava CO, otrava sedativy, delirium,...)

Výroční zpráva za rok 2012



**Evropské
monitorovací centrum
pro drogy a drogovou
závislost (EMCDDA)**

Zřízeno: 1993

Sídlo: Lisabon

Počet zaměstnanců: 100

Problematika heroinu



Nejzávažnější problém v oblasti drog v Evropě

Celkově klesající trend v užívání

Závažný problém v některých sousedních zemích

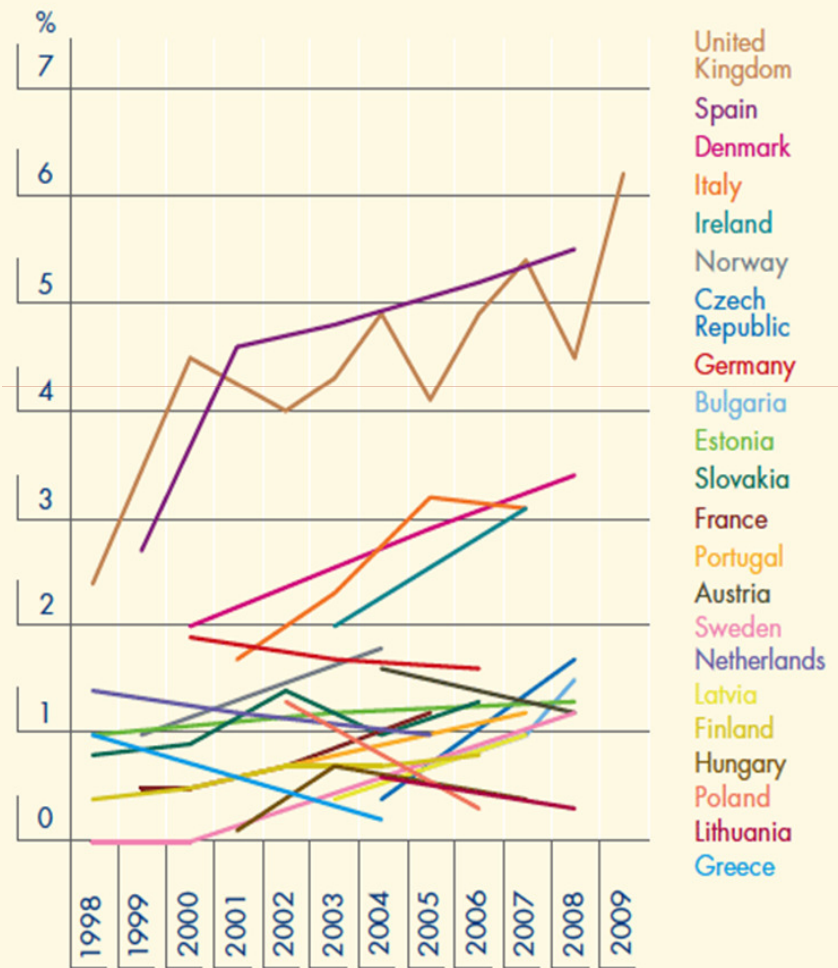
Přibližně 1,3 milionů v EU a Norsku:

0,4 % dospělé populace

Nejnovější odhady na úrovni jednotlivých zemí:

0,1 až 0,7 % dospělé populace

Zprávy o problémovém užívání opioidů v Rusku a na Ukrajině (UNODC): 2–4x vyšší než průměr EU



Kokain



15.5 mil. osob (15–64 let) někdy zkusilo kokain (4.6 %)

4 milliony v posledním roce (1.2 %)

3 milliony mladých dospělých (15–34) v posledním roce (2.1 %)

Aktuálně známky poklesu užívání, pokles záchytů kokainu v r. 2010

Výrazný nárůst těchto úmrtí ve Španělsku a Spojeném království



Celková stabilizace trendů v užívání extáze a amfetaminů



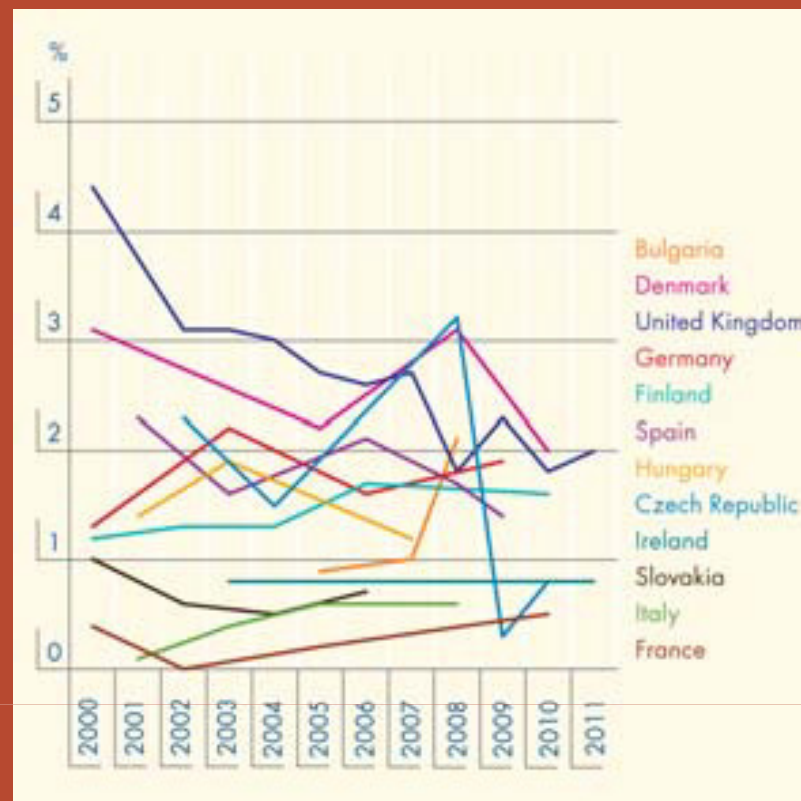
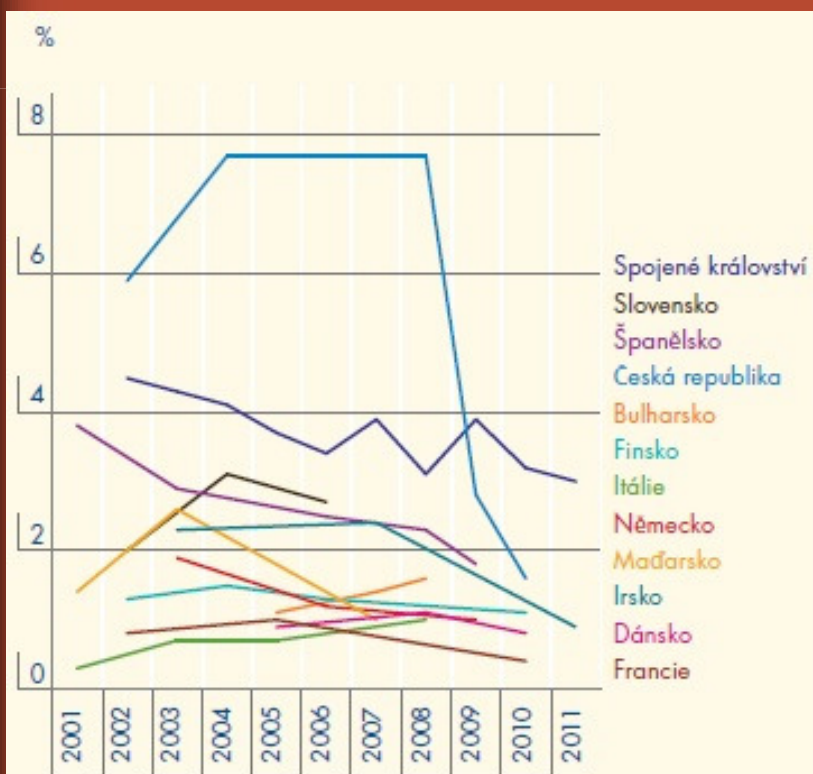
Extáze
v posledních 12
měsících užilo 1.5
mil. mladých
dospělých (1,7 %)



Amfetaminy
v posledních 12
měsících užilo 1.5
mil. mladých
dospělých

Užívání drogy v posledních letech mezi mladými dospělými

Extáze



Amfetaminy

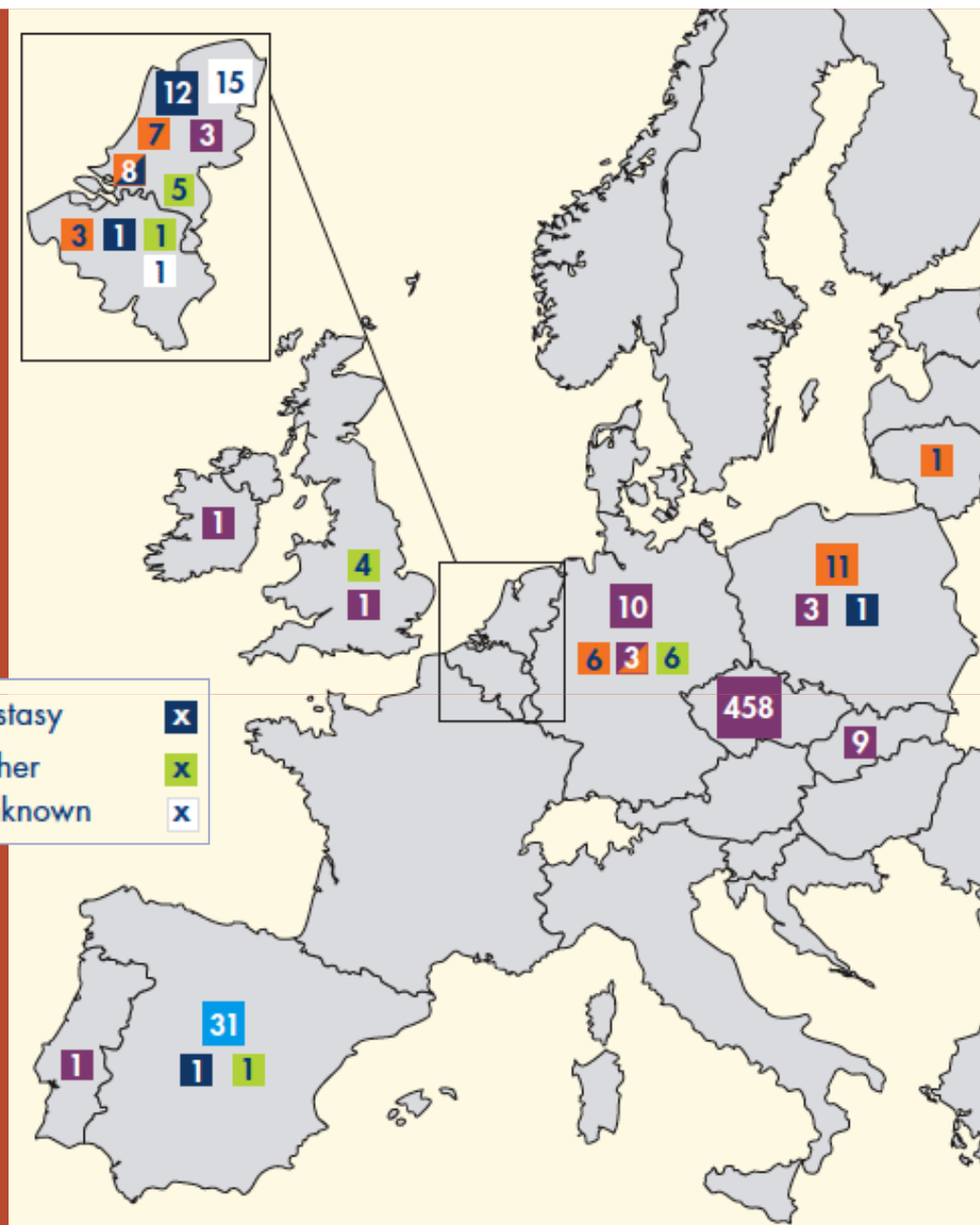


Regionální rozdíly v míře a vzorcích
problémového užívání amfetaminů v Evropě



Nelegální zařízení na výrobu drog zlikvidovaná v EU podle hlášení podávaných Europolu

Amphetamine	x	Ecstasy	x
Methamphetamine	x	Other	x
Cocaine	x	Unknown	x



Prevalence užívání konopí



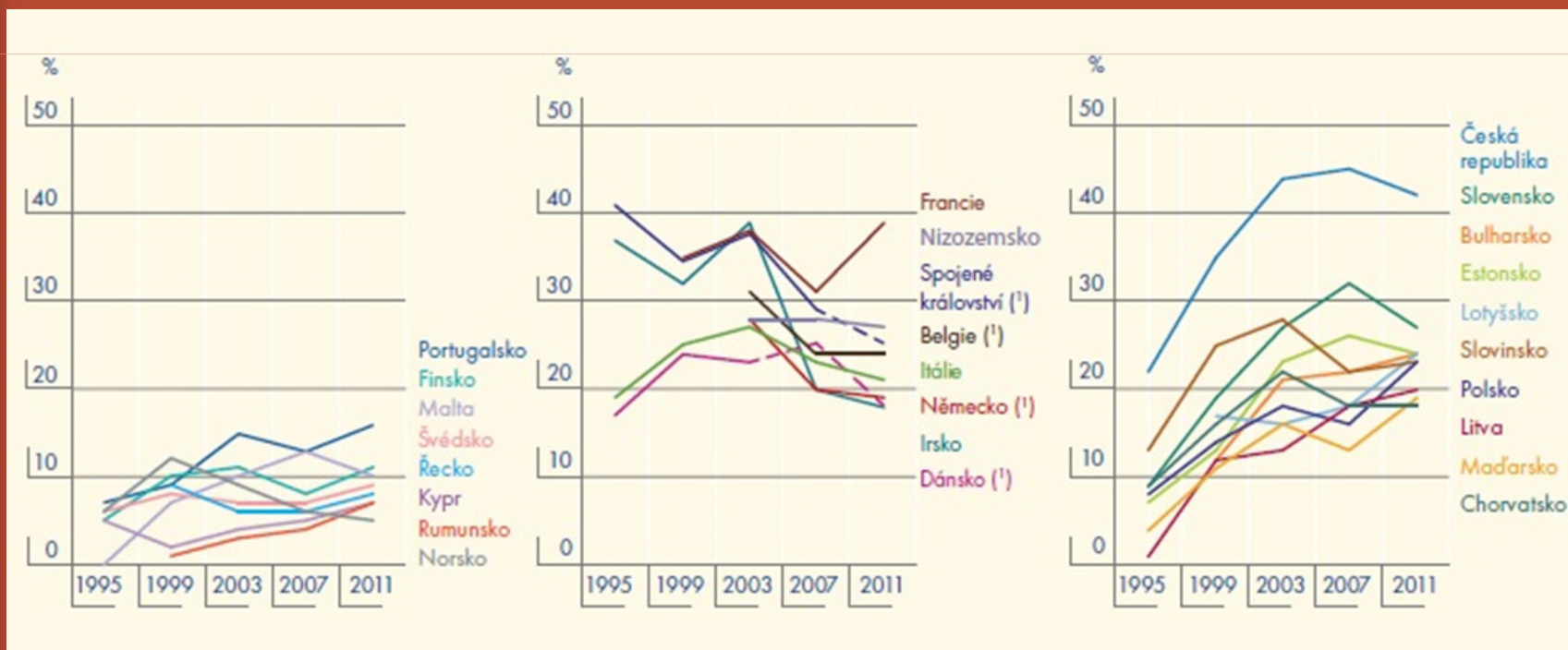
80,5 milionů Evropanů někdy užilo konopí
(23,7 %)

23 milionů ho užilo v posledním roce (6,8 %)

16 milionů z nich patří do věkové skupiny 15-34 let

Je možné, že až 8,5 milionů mladých Evropanů (6,6
%) užilo konopí v posledním měsíci - denně

Užívání konopí: prevalence v posledních letech mezi mladými dospělými



Detekce nových drog

V roce 2011 byl evropskému systému včasného varování nahlášen rekordní počet nových látek (49)

Vzrůstající popularita syntetických katinonů, včetně mefedronu

Nové syntetické kanabinoidy



Užívání nových drog (spice, katinonů atd.)

K dispozici poměrně málo studií

Látky a jejich obchodní názvy se mění

Vysoká prevalence se může vyskytnout u návštěvníků klubů a uživatelů konopí



Monitorování internetu

V krátkodobé studii z ledna 2012 bylo zjištěno 693 internetových obchodů, což znamená nárůst oproti 314 obchodům v lednu 2011 a 170 obchodům v lednu 2010.

Látky prodávané jako „legální opojení“

Rychlé přizpůsobování kontrolním opatřením



Nové drogy v internetových obchodech

	01/2012	07/2011	01/2011
Kratom (natural)	179	128	92
Salvia (natural)	134	110	72
Hallucinogenic mushrooms (natural)	95	72	44
Methoxetamine (arylcyclohexylamine)	68	58	14
MDAI (aminoindane)	65	61	45
6-APB (benzofuran)	54	49	35
MDPV (cathinone)	44	32	25
4-MEC (cathinone)	43	32	11
Methiopropamine (thiophene)	39	28	5
5-IAI (aminoindane)	38	27	25

Zdroj: EMCDDA.



**DĚKUJI ZA
POZORNOST**

