

Toxikologické vyšetření

Mgr. Jana Gottwaldová

Toxikologie

- nauka o jedech, jejich účincích na organizmus a léčbě otrav
- jed – látka, vyvolávající po vniknutí do organismu (i v malém množství) jeho poškození
- řadí se mezi cizorodé látky tzv. xenobiotika – i účinné léky se mohou při předávkování projevit jako jedy

Způsob intoxikace

- jedy mohou být – pevné, kapalné, plynné
- dle způsobu intoxikace: požitím, vdechnutím, parenterálně (injekcí), kůží, sliznicemi ...
- dle způsobu účinku: obecně působící (ovlivňují metabolické pochody), karcinogeny, mutageny, narkotické, iritanty, alergeny ...
- dle cílového orgánu: krevní, hepatotoxické, neurotoxické, neurotoxické, poškozující kůži ...

Intenzita účinku

- cesta podání, dávka a forma jedu, současně podané látky, které ovlivňují vstřebávání a metabolismus, resistance, vnímavost organismu

Účinek jedu

Dávka

- **toxická** – množství schopné vyvolat otravu
- **letální (LD₅₀)** vyjadřuje individuální citlivost organismu k jedu
- **terapeutická (účinná)** – u léků, důležitá je tzv. *terapeutická šíře* - rozdíl mezi dávkou toxickou a terapeutickou (nebezpečí u léků s malou ter. šíří –nutno monitorovat)
- **nejvyšší přípustná konc. tox. látky (NPK)** – zákonem povolená max. koncentrace látky v ovzduší, ve vodě, v potravinách...
- **nejvyšší přípustný limit v biol. materiálu** – konc. považována za bezpečnou u osob při styku s jedem v pracovním procesu

Individuální rozdíly (citlivost k účinkům jedu)

- **věk** – př. děti jsou citlivější k salicylátům a morfinu než dospělí, staří lidé pomaleji metabolizují řadu jedů než mladí, nejcitlivější je organismus v embryonálním období
- **pohlaví** – ženy obecně citlivější
- **fyziol. stav organismu**
- **současně probíhající choroba**
- **návyk**
- **předchozí poškození cílového orgánu** (játra – hepatotoxická látka)

Příčina otrav: úmyslné (sebevražda, toxikomanie, doping), náhodné

Jed v organismu

- biolog. poločas – doba za kterou množství jedu klesne na $\frac{1}{2}$
- Kumulativní jedy – hromadí se v organismu (Pb, Hg), kumulace může nastat i při poruše fce orgánu podílejícího se na metabolismu (játra)
- Jed se vylučuje buď nezměněn, častěji je však metabolizován – redukcí, oxidací, metylací, hydroxylací konj. s kys. glukuronovou – cílem je snazší vyloučení z organismu
- Na metabolismu jedu se podílejí – nejvíce játra, dále svalová tkáň, ledviny.
- Jedy (jejich metabolity) se vylučují z organismu obvykle močí, dále dechem, žlučí...

Důvod toxikologického screeningu

- **u akutních otrav** (náhodné, úmyslné) – akutní vyšetření
- **toxikomanie** (nově zachycení, léčba metadonem, abstinence)
- **monitorování hladin léků** (u léků s malou terapeutickou šíří)
- otrava (v pracovním procesu – průmysl, zemědělství, desinfekce - profesionální toxikologie)
- forenzní toxikologie (podezření na trestní čin, alkohol u řidičů..., ústav soudního lékařství)
- doping (antidopingové laboratoře)

Biologický materiál

- **krev, sérum** –výhoda: přímí vztah mezi tíží otravy a koncentrací jedu v krvi; nevýhoda: konc. bývají nízké - závisí na biologickém poločasu jedu
- **moč** – výhoda: snadno se získá, jed bývá v moči koncentrován (objeví se až za určitou dobu, později než v krvi); nevýhoda: koncentrace ovlivněna zahuštěním moče, výskyt řady metabolitů – obtížnější hodnocení nálezu
- **žaludeční obsah** (analýza původní látky); **dech** (těkavé látky), **vlasý, nehty** (kumulativní jedy), **tkáně** (jaterní biopsie)

Co prokazujeme?

- **samotný jed** – př. olovo v krvi, arzén ve vlasech
- **metabolity jedu** – kys. hippurová v moči (toulén, xylen); kys. mandlová v moči (styren)
- **látky** jejichž koncentrace se mění **v souvislosti s otravou** - př. u otravy Pb je blokována syntéza porfyrinů, v moči se prokazuje zvýšená konc. kys. δ -aminolevulové a koproporfyryn III
 - při otravě organofosfáty klesá aktivita cholinesterázy v krvi
- **jiné poškození organismu** – př. otrava kadmíem způsobuje poškození buněk tubulu ledvin

Metody stanovení

- Chromatografické – TLC, GC -MS, HPLC-MS
- Spektrální analýza – UV, IR, AAS
- Imunochemické metody – EIA (EMIT, ELISA), KIMS, chemiluminiscence (LIA), florescenční (FPIA)
- Ostatní metody – mikroskopie (spóry jedovatých hub)

Chromatografické metody

- **TLC** – kvalitativní průkaz, denzitometrická kvantifikace
- **GC** – stanovení těkavých látek (alkoholy, chlorované uhlovodíky)
- **HPLC** – dělení a detekce velkého spektra látek

Nutná úprava vzorku – extrakce, destilace....

Metody vyžadují vhodný způsob detekce v závislosti na chem. složení jedu – nejčastěji kombinace s MS

Spektrální analýza

- Absorbční spektrum izolované látky v UV (IR oblasti spektra – identifikace látky
- Atomová absorbční spektrofotometrie (AAS) – kvantitativní stanovení kovů – Pb, Cd, Al.....

Imunochemické metody - EIA (EMIT, ELISA) KIMS, LIA, FPIA

- výhody: kvantifikace jedů bez předchozí úpravy vzorků, možná automatizace, rychlé
- nevýhoda: umožňují pouze skupinovou detekci – s protilátkou reaguje více látek podobného složení, mohou reagovat i neúčinné metabolity
- použití: rychlá orientační detekce hlavně pro drogový screening v moči (OPI, AMP, BEN, BAR, MET, COC, THC, TCA...), monitorování hladin léků v séru (LIA, FPIA)

Imunochemické metody - EIA

- test je založen na kompetici mezi látkou ve vzorku a látkou značenou enzymem **glukoso-6-fosfát dehydrogenázou** (G6PDH) o vazebná místa na protilátce.
- aktivita enzymu klesá při vazbě protilátky, proto lze koncentraci látky ve vzorku měřit podle změny aktivity enzymu.
- aktivní enzym mění NAD na NADH, což způsobí změnu absorbance
- endogenní sérová G6PDH neinterferuje, protože koenzym NAD působí pouze s bakteriálním enzymem (***leuconostoc mesenteroides***) použitým v tomto testu.

Kazuistika č. 1

- žena, 71 let, lečí se s hypertenzí a štítnou žlázou, přijata na JIP pro dušnost, slabost, pocit na omdlení, bolest hlavy, opakovaně přítomny stavy “zahledění“ trvající pár sekund. Při příjmu je při vědomí, ale nekontaktní.
- vyšetřena na neurologii, CT negativní
- Laboratorní nález: pozitivní marihuana - výsledek potvrzen v Ústavu soudního lékařství (zkřížená reakce vyloučena)
- Pacientka požívání marihuany neguje, včera večeřela bramborák, který jí donesl vnuk....
- 4. den hospitalizace stabilní předána na stand. odd., po kompenzaci TK propuštěna do domácí péče

Příklady otrav- látky blokuující transportní fci Hb

COHb (karbonylhemoglobin)

- otrava CO, vzniká při nedokonalém hoření
- CO blokuje transportní fci Hb, 200x vyšší afinita než O_2 , vzniklý COHb není schopen přenášet O_2 - hypoxie tkání, včetně laktátové acidózy. Inhibuje účinek cytochromoxidázy, váže se na myoglobin – působí toxicky na myokard a kosterní svalstvo, tox. účinek (nedostatek O_2) nejvíce postihuje mozek
- vazba CO je reversibilní, uvolňování je velmi pomalé – nutná hyperbarická oxygenterapie

Otrava oxidem uhelnatým

podíl COHb %	projevy
< 5%	ref. rozmezí
> 10%	kuřáci
20	intenzivní bolest hlavy, dušnost
30	intenzivní bolest hlavy, poruchy vidění, spavost
40-50	intenzivní bolest hlavy, tachykardie, zmatenost, letargie, kolaps
60-70	bezvědomí, křeče
80	náhlá smrt

Příklady otrav- látky blokuující transportní fci Hb

- **MetHb (methemoglobin)** vznik oxidací Hb ($\text{Fe}^{\text{II}} \rightarrow \text{Fe}^{\text{III}}$) – působením dusitanů, aniliniových barviv, sulfonamidů...
- **SulfHb (sulfhemoglobin)** – otrava sulfanem
- **HbCN (kyanohemoglobin)** – otrava CN, HCN

Stanovení: přímá spektrofotometrie - analyzátory ABR s fotometrickým systémem, paralelní stanovení Hb, Hb O₂, MetHb, a COHb

Kazuistika č.2

- žena, 45 let, s ničím se neléčí
- v koupelně s plynovou karmou cítila plyn, který vdechovala 5 – 10 min., poté dýchací obtíže, tlak na hrudi, bolesti hlavy, nezvracela, trnutí a necitlivost končetin
- přivezena na interní ambulanci, kompl. odběry včetně **COHb – 29,9%**, letecký transport na ARO FN Ostrava, kde byla ihned zahájena terapie v hyperbarické komoře (před provedením léčby nutná oboustranná punkce ušního bubínku)

Otrava alkoholy

Etanol

- akutní: excitační a narkotický účinek na CNS, metabolická acidóza, hypoglykémie, hyperurikémie, ↑ ALT, ↑ osmolalita
- chronický účinek: steatóza až cirhóza jater, ↑ GMT, ↑ %CDT
- > 3‰ : kóma, křeče, hypotermie (podchlazení), hrozí smrt vyvolána útlumem dechového centra a oběhovým selháním
- u alkoholika nebo osoby dlouhodobě nadužívající alkohol vzniká jakási "rezistence" (odolnost) a tyto stavy mohou nastoupit až ve vyšším stupni opilosti)

Otrava alkoholy

Metanol

- Nejdříve příznaky podobné ethanolu (lehká opilost, horší artikulace) poté 12 – 24 hod. bez příznaků (s kombinací s alkoholem až 36 hod.) , následuje bolest hlavy, dušnost, bolest břicha , křeče, snížená ostrost vidění, rozvrat met. procesů
- toxické účinky met. produktů – formaldehydu (na zrakový nerv), kys. mravenčí (met. acidóza)
- tox. dávka – 0,1 ml/ kg, smrtelná dávka – 1 ml/kg
- Léčba: podání antidota (etanol, fomepizol) min. tvorbu tox. produktů (kompetitivní inhibice alkoholdehydrogenázy); HD – odstraňuje metanol i jeho metabolity, koriguje metalické poruchy

Kazuistika č.3

- Muž, 66 let, přivezen do nemocnice rodinou pro nechutenství, bolesti hlavy, celkovou nevolnost. Měl zrakové obtíže – mžitky před očima, výpadky zrakového pole, černobílé vidění, postupně nevidí vůbec. Údajně denně popíjel 2-3 dcl rumu, k tomu další alkohol.
- při příjmu byl orientován, při vědomí, zpomalený tep, laboratorní nález: metabolická acidóza ↓pH 7,12 [7,35-7,43], laktát 1,3 mmol/l [0,5-2,2], osmolalita ↑309 mmol/kg [275-295], kys. mravenčí 699 mg/l, metanol 85 mg/l , CT mozku bez známek postižení
- provedena HD, kontinuálně IV podáván ethanol
- následující den kys. mravenčí 12 mg/l
- po vysazení ethanolu dochází k rozvoji delirantního stavu (abusus alkoholu) s nutností sedace, pro nedostatečnou dechovou aktivitu nutná intubace, po několika dnech extubace a opět delirantní stav

Otrava alkoholy

Ethylenglykol

- metabolizován v játrech působením alkohol - a aldehyddehydrogenázy na silné kyseliny (glyoxalovou, šťavelovou, oxalovou), vzniká těžká metabolická acidóza, která se prudce zhoršuje a ohrožuje život otráveného
- kys. oxalová se váže s Ca, depozita krystalů šťavelanu vápenatého vedou k poškození buněk (mozek, ledviny, myokard, plíce), také výrazné ↑↑ osmolality
- tox. dávka 200 mg/l, smrtelná dávka: 850- 2000 mg/l (nejednotné údaje)

Otrava alkoholy

Ethylenglykol

Příznaky otravy: opilost bez zápachu alkoholu

- Neurologické stádium (30 min. – 12 h. po požití) opilost, euforie, smazaná řeč, ospalost, zvracení. Během 4-12 h. rozvoj met. acidózy
- Kardiopulmonální stádium (12-24 h.) – tachykardie, hypo nebo hypertenze, těžká m. acidóza a s hyperventylací a selháváním orgánů
- Renální stádium –(24 -72 h.) – hematurie, albuminurie, selhání ledvin, ne vždy úprave fce ledvin

Léčba: : podání etanolu (100x vyšší afinita k ADH); HD – odstraní ET i metabolity, upraví acidózu

Kazuistika

- žena, 62 let, s hepatální cirhózou, t.č. 2 roky abstinuje od alkoholu
- nalezena doma zmatená se sklenicí modré tekutiny na dně, prázdné blistry od léků (benzodiazepiny), volána RZS
- při příjmu porucha vědomí, těžká metabolická acidóza
- vstupní laboratorní nálezy:
pH 6,96 [7,35-7,43]; osmolalita 358 mmol/kg ; Na 141 mmol/l; urea 1,8 mmol/l, glu 8,1 mmol/l, ethanol – 0 mmol/l, tox. screening - neg.
- osmolal gap = 66 mmol/kg

	10.9.2015 8,50 hod.		10.9.2015 10,20 hod.	10.9.2015 16,30 hod.	10.9.2015 20 hod.	10.9.2015 24 hod.	11.9.2015 1,30 hod
Glukóza (mmol/l);[3,9-5,6]	8,1			6,2	8,7	13,0	11,6
Urea (mmol/l);[1,7-8,3]	1,8		2,1				
Na (mmol/l);[136-145]	141		145	144	142	140	141
Osmolalita (mmol/l);[275 - 295]	358		351	312	312	327	330
Ethanol (mmol/l)	0		33,7 (1,5 ‰)	13,2 (0,6 ‰)	19,6 (0,9 ‰)	44,3 (2,0 ‰)	47,4 (2,1 ‰)
Vypočítaná osmolalita	292			310	312	337	341
Osmolální okno	66			2	0	10	11
Ethylenglykol (g/l)	?	3,69					

	11.9.2015 6 hod.	11.9.2015 19 hod.	12.9.2015 5 hod.
Glukóza (mmol/l);[3,9-5,6]	8,3	6,1	5,7
Urea (mmol/l);[1,7-8,3]	0,8		2,0
Na (mmol/l);[136-145]	142	140	139
Osmolalita (mmol/l);[275 - 295]	330		285
Ethanol (mmol/l)	44,6 (2,0 ‰)	11,1 (0,5 ‰)	0
Vypočítaná osmolalita	338		285,7
Osmolální okno	8		0,7
Ethylenglykol (g/l)			negativní

Závěr: otrava ethylenglykolem

Terapie: opakovaná dialýza 10 – 20.10.2015 , terapie alkoholem 1- 1,5 ‰

Otrava léky

Paracetamol

závažné, smrtelné otravy, v játrech přeměna na toxický metabolit, kt. se kovalentně váže na bílkoviny hepatocytu – hrozí jaterní selhání

Příznaky: nechutenství, pocení, ospalost, nauzea a zvracení

Laboratorní nález

- Elevace ↑ jaterních enzymů, ↑ bilirubinu, pokles ↓albuminu ,
prodloužení APPT, častá hypoglykémie, vzestup ↑AMS (pankreatické
amylázy)
- metabolická acidóza, postižení ledvin: zvýšení urey, kreatininu,
proteinurie, hematurie

Léčba

podání antidota (N-acetylcystein) nejpozději do 12 -15 h. po požití

Otrava kovy

Cd, – otrava při profesionální expozici

- poškození buněk proximálního tubulu ledvin

Pb – kumulace v organismu (vys. konc. ve vlasech)

- blokuje tvorbu Hb – v moči nacházíme jeho prekurzory (kys. δ –aminolevulová a koproporfyryl III)

Al – u HD pacientů, je třeba zabránit přestupu do organismu z dialyzačního roztoku (čištění vody reversní osmózou)

- Snižuje citlivost kostní dřeně na erytropoetin, vyvolává psychické změny

Celkem v ČR 2-3 případy ročně.

Otrava kovy

Hg – nejčastěji profesionální otrava (elektrolýza louhu, výroba rtuťových přístrojů)

- do organismu vniká inhalační cestou, trávicím ústrojím se nevstřebává
- chronická otrava se projevuje zánětem dásní a třesem

Anorganické sloučeniny rtuti – sublimát HgCl_2 , vstřebávají se trávicím ústrojím.

- akutní otrava, projevuje se zvracením krve nebo natrávené sliznice, v této fázi může dojít ke smrti perforací jícnu. Za 1-3 dny dochází k poškození ledvin.
- Provádí se dialýza, úprava fce ledvin je pomalá

Otrava kovy

Organické sloučeniny Hg

velmi toxické alkylsloučeniny (metylrť a dimetylrť)

- požití kontaminovaných ryb a vodních živočichů
- po bezpříznakovém období (týdny až měsíce) dochází k neurologickým poruchám až ochrnutí

Kazuistika č.5

- muž, 53 let omylem požil smrtelnou dávku HgCl_2 , vyplivl, vyplachoval dutinu ústní, k lékaři nešel (až 3. den)
- zvracel krev, nemočil, cítí se slabý, špatně dýchá – ihned přijat na JIP – konzultováno toxikologické centrum v Praze i v této fázi doporučeno podat antidotum (dimalvan) s denními hemodialýzami, hrazení tekutin

Laboratorní výsledky (vstupní): urea 26 mmol/l [1,7-8,3], Krea 810 [60 - 115] - akutní selhání ledvin, postižení sliznic GIT

Po 7 dnech přeložen na standardní odd. výstupní lab. hodnoty urea 9,6 mmol/l [1,7-8,3], Krea 363 [60 - 115]

Závěr: chronické poškození ledvin, postižení sliznic GIT

Otrava houbami

Podle mechanismu účinku mykotoxinů se rozlišuje několik syndromů:

- hepatorenální
- neurotoxický
- nefrotoxický
- muskarinový
- psychotropní

Rozlišení jednotlivých hub je možné mikroskopickým vyšetřením zbytků syrových hub nebo jídla, zvratků, popř. stolice

Otrava houbami

Mochomůrka hlízovitá, zelená , jarní - hepatorenální syndrom

- toxické termostabilní peptidy - amatoxiny a falotoxiny (buněčné jedy), LD - 50 g čerstvé houby (1 plodnice)

Klinický obraz: po 7-13 h. se objevuje kolika, zvracení, průjmy, po zlepšení trvajícím 21-36 h. od požití nastává selhání jater a ledvin

Léčba: výplach žaludku, projímadlo, opakované masivní dávky černého uhlí, podání antidota - Legalon SIL inj. (silibinin, vytěsňuje amatoxin z hepatocytů), nutné do 48 h. – mívá pouze omezený efekt.; hemodialýza, závažné případy- transplantace jater.

V ČR ročně cca 10 případů.



Otrava houbami

MARS (molecular Adsorbent Recirculating Systém) –tzv. „umělá játra“ – pomáhají nahradit jaterní detoxikaci a mohou překlenout období jaterního selhání do doby transplantace nebo vlastní jaterní regenerace.

Princip: kombinace dialýzy, v dialyzační tekutině je albumin, na který mohou vázat se toxiny nerozpustné ve vodě.

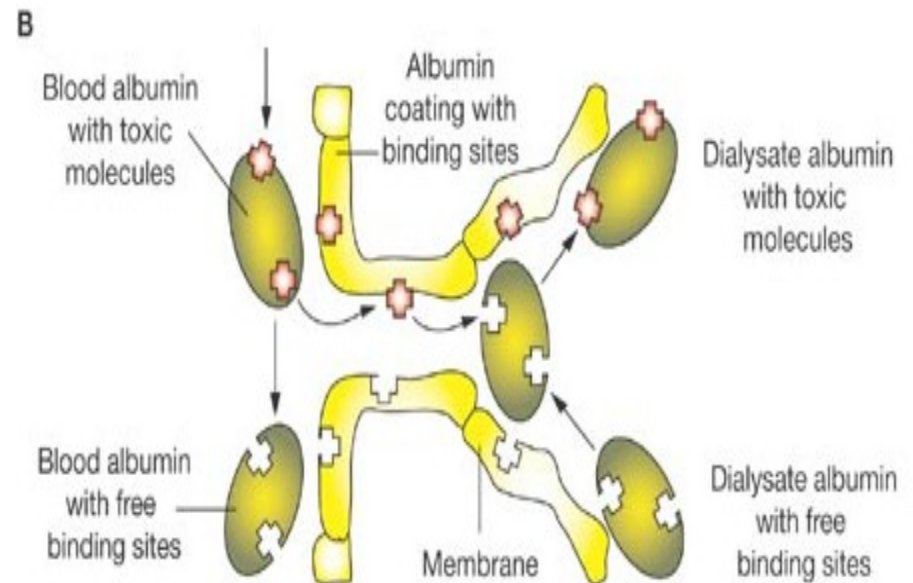
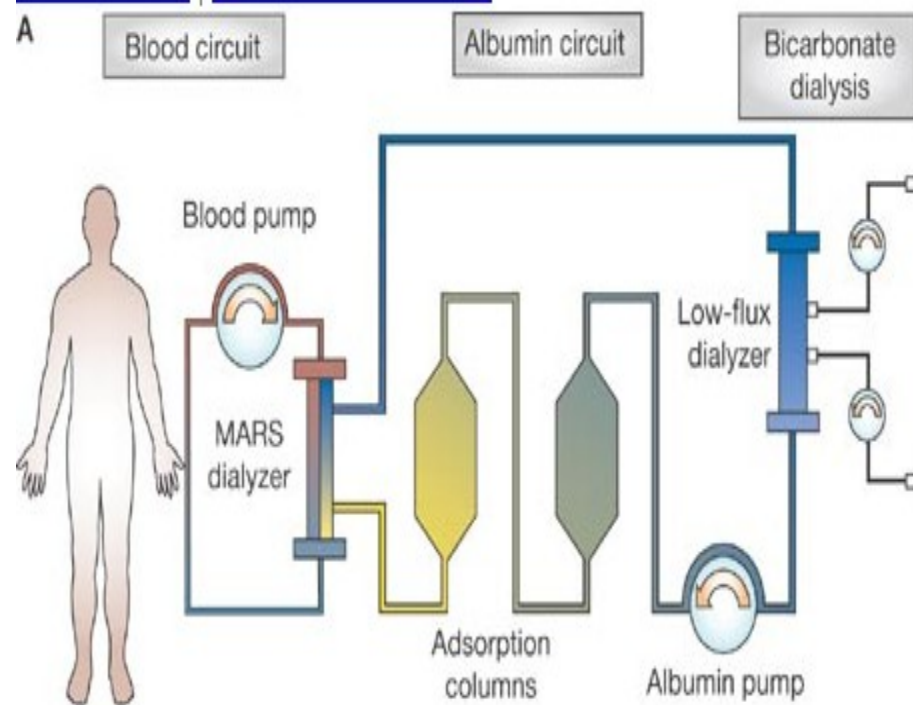
Klinické použití od r. 1993.

V ČR v FNuSA



MARS

- krev proudí mimotělním oběhem do „MARS“
- v „MARS“ dialyzátoru je spec. membrána, vně které je dialyzační roztok s albuminem – průtokem dochází k vazbě toxinů na volný albumin v dial. roztoku
- dále je provedena regenerace albuminu (zbavení od toxinů) a jeho opětovné využití



Otrava pesticidy

Organofosfáty – postřiky proti hmyzu....

- Ireversibilní inhibitory cholinesterázy (CHE)
- počáteční symptomy jsou závislé na způsobu intoxikace, při zasažení parami je jako první postiženo oko a dýchací soustava, při perorálním požití se otrava jako první projeví zasažením GIT.

Klinické příznaky: nadměrná salivace a pocení, únik moči a stolice, až svalové paralýza, zmatenost, ataxie, ztráta reflexů až koma.

Léčba: spočívá v podání atropinu i.v. a reaktivátorů CHE. Reaktivátory jsou látky, které dokáží uvolnit organofosfáty z vazby na CHE; atropin potom jako antagonist acetylcholinu snižuje jeho účinek na receptorech.

Kazuistika č.6

- Muž, 21 let (zahraniční student medicíny), byl přijat na IKK pro slabost, nevolnost, zvracení, dyspepsii, v nedávné době opakované hospitalizace pro podobné stavy s dg. pankreatitidy po dietní chybě.
- Lab. nález: ↑urea 8,6 mmol/l, ↑krea 270 μmol/l, ↑amyláza 3,52 μkat/l, ↑↑Ca 3,80 mmol/l – pro snížení Ca byla zavedena rehydratační terapie a podpora diurézy, následně bylo doplněno vyšetření VIT D 1583 nmol/l [75-225]!!
- V rámci dif.dg se pátralo po jiných příčinách ↑↑Ca – vše negativní (PTH, RTG kostí, UZ...)
- Pacient přiznává opakovanou aplikaci preparátu s obsahem anabolik a VIT D – v rozmezí 3 měs. si do svalu aplikoval cca 14 mil. IU VIT D (DDD je 600 IU /den)
- Hyperhydratační, diuretická terapie s aplikací kalcitoninu, parenterální výživa (elevace pankreatických enzymů), UZ vyšetření srdce s poz. nálezem
- Po 33 dnech hospitalizace VIT D 1024 nmol/l, Ca 2,99 mmol/l.....

Vitamín D

- Steroidní hormonální prekurzory –kalciferoly
- D2(ergokalciferol, rostlinného původu), D3 cholekalciferol (živočišného původu) – tvoří se v kůži působením slunečního záření
- nezastupitelná role při metabolismu Ca – novotvorba kostí
- ↑↑ VIT D vyplavování Ca z kostí, ↑↑Ca/S, ↑↑ Ca/U, kalcifikace měkkých tkání (cévy, ledviny), poruchy GIT
- ↑↑Ca/S – slabost, letargie, únava, nechutenství, zvracení, iritace pankreatu, bradykardie a hypertenze, může vyvrcholit zástavou srdce

Toxikologické informační středisko

Funkce

- **Nepřetržitá (24/7/365) celorepubliková telefonická lékařská informační služba v případech akutních otrav lidí a zvířat**
- **Státní zásoba antidot, antisér, antitoxinů neregistrovaných v ČR**
- **evidence akutních intoxikací**
- **Laboratoř průmyslové toxikologie**

Toxikologické informační středisko

- **Státní zásoba vzácných a neregistrovaných v ČR antidot, antisér, antitoxinů**
- **Proč: v ČR není registrace - Vysoká cena, malé využití ZZ, rychlá expirace**
- **Státní systém krizové připravenosti (terorismus, chemické a radiační nehody, atd.)**
- **Rychlá pomoc v urgentních situacích (kyanidy, organofosfáty, botulismus, atd.)**

Toxikologické informační středisko

Státní zásoba vzácných a neregistrovaných v ČR antidot, antisér, antitoxinů

Jak?

1. Telefonická konzultace TIS (224 91 92 93)
2. Webové stránky TIS: www.tis-cz.cz, „Informace pro odborníky“ – „Dostupnost antidot“ – „Žádost ZZ o poskytnutí antidota“
3. Zajištění transportu
4. Refundace poskytnutého antidota.