

## TOXIKOLOGIE

Toxikologie je nauka o jedech, jejich vlastnostech, o jejich působení na organismus a o léčbě otrav. Součástí toxikologie je *laboratorní průkaz jedu*. Podle užšího zaměření lze toxikologii rozdělit na několik disciplín:

Toxikologie	Čím se zabývá
<b>Klinická:</b>	Analyzuje léčiva, těžké kovy a další chemické látky v tělních tekutinách a tkáních. <b>Cílem je péče o pacienta.</b> Analýzy tohoto typu slouží k diagnóze a řízení dalšího postupu v případě akutního předávkování léčivem a ke klinické pohotovosti při akutní expozici chemikáliím z neznámého zdroje v pacientově okolí.
<b>Analytická:</b>	Využívá chemických analytických postupů k průkazu a stanovení toxických látek
<b>Experimentální:</b>	Zkoumá účinky toxických látek na pokusných zvířatech
<b>Farmaceutická:</b>	Zabývá se toxickými (vedlejšími) účinky léčiv
<b>Obecná:</b>	Zkoumá teorii a obecné zákonitosti, týkající se interakce chemických látek a živých organismů; definuje základní pojmy užívané v toxikologii
<b>Průmyslová:</b>	Zabývá se toxickými účinky látek, jejichž zdrojem je průmysl (suroviny, meziproducty, produkty, odpady). Zjišťuje bezpečnostní limity pro práci s chemikáliemi a určuje pravidla, jak s nebezpečnými chemikáliemi správně zacházet.
<b>Predikční:</b>	Umožňuje určit toxické vlastnosti látek bez použití pokusných zvířat (na základě nahromaděných pokusných informací, znalosti chemické struktury testované látky, pomocí zobecňování a použití různých modelů, využití znalostí chemie, fyziky, biologie, matematiky, kybernetiky a molekulové grafiky)
<b>Soudní (forenzní):</b>	Zabývá se způsoby, jak prokázat otravu. Poskytuje přehledy účinků potenciálně toxických látek na živé organismy, případně i jako příčiny smrti.
<b>Speciální:</b>	Zaměřuje se na konkrétní chemické látky, popisuje mechanismus jejich účinku, průběh otravy, shromažďuje informace o toxických vlastnostech
<b>Veterinární:</b>	Obdoba klinické toxikologie u zvířat
<b>Vojenská:</b>	Zabývá se problematikou chemických zbraní
<b>Životního prostředí (enviromentální):</b>	Zkoumá škodlivé vlivy látek přítomných v prostředí, pocházejících z přirozených či průmyslových zdrojů, na živé organismy

Již ze stručného popisu jednotlivých toxikologických disciplín je zřejmé, že takto popsaná odvětví se v mnoha ohledech překrývají a jejich přesné odlišení je obtížné. Některé prameny proto rozlišují jenom *tři hlavní toxikologická odvětví*:

- enviromentální,
- klinickou a
- forenzní toxikologii,

ale ani zde se nedá mluvit o zcela „čistém“ členění. V dalším textu bude probrána toxikologie především s ohledem na potřebné základní znalosti laboratorních pracovníků.

## Jedy

Jedy jsou látky, které po vniknutí do organismu způsobují morfologické a funkční změny v tkáních a tak vyvolávají onemocnění (otravu). Řadí se mezi cizorodé látky, které se mohou najít v organismu, tzv. *xenobiotika*. Toxický účinek látky mnohdy záleží i na množství (příklad: předávkování léky). Množství vyvolávající otravu se pohybuje v oblasti *tří řádů: miligramy až gramy!*

### Vniknutí jedu

Mechanismy vniknutí jedu do organismu mohou být

- vdechnutí
- požití
- parenterální (nitrožilní, podkožní, nitrosvalová injekce)
- vstřebání z kůže
- vstřebání ze sliznic
- jiná neobvyklá cesta (*per rectum, per vaginam*, přes dialyzační membránu při hemodialýze aj.)

### Způsob účinku jedu

<b>Jedy obecně působící:</b>	Ovlivňují metabolické pochody v organismu - karcinogeny, mutageny, teratogeny, často působí tyto účinky společně; narkotické jedy, iritanty, alergeny aj.
<b>Jedy působící na cílový orgán:</b>	Krevní, hepatotoxické, nefrotické, neurotoxické, poškozující kůži aj.

### Účinek jedu

<b>Toxická dávka:</b>	Nejmenší množství jedu, schopné vyvolat příznaky otravy
<b>Letální dávka:</b>	Obvykle se udává LD <sub>50</sub> , tedy dávka, která <i>vyvolá smrt 50% postižených</i>
<b>Nejvýše přípustná koncentrace (NPK):</b>	Zákonem povolená <i>maximální koncentrace toxické látky</i> v ovzduší, ve vodě, v potravinách, v pracovním prostředí apod.
<b>Nejvýše přípustný limit v biologickém materiálu:</b>	Koncentrace, která se ještě <i>považuje za bezpečnou</i> u osob přicházejících do styku s jedom (např. v pracovním procesu)

### Individuální rozdíly v citlivosti organismu k účinku jedu jsou dány

- věkem
- pohlavím
- dědičnou odchylkou metabolismu
- fyziologickým stavem organismu
- návykem na jed (tzv. *mithridatismus*)
- předchozím poškozením cílového orgánu
- vzájemnou potenciací či rušením účinku jedů

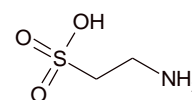
## Osud jedu v organismu

- *Rychle se vylučující jedy*
- *Kumulativní jedy*

Shromažďují se v organismu a jejich účinek se projeví až po určité době; kumulace jedu může nastat i při poruše funkce orgánu, který se podílí na metabolismu (játra) či vylučování jedu (ledviny)

Jed se vylučuje

- **z hlediska metabolismu**
  - *nezměněný*
  - *metabolizovaný* (redukci, oxidací, metylací, hydroxylací, konjugován s kyselinou glukuronovou, sírovou či taurinem – smyslem je snazší eliminace jedu z organismu – např. zvýšení rozpustnosti ve vodných roztocích)
- **z orgánového hlediska**
  - močí (obvykle)
  - dechem
  - žlučí apod.



taurin

Rychlost vylučování jedu je vyjádřena *biologickým poločasem* (což je doba, za kterou množství jedu v organismu klesne na polovinu)

## Nejčastější otravy

Spektrum nejčastějších otrav se stále mění (jak o tom svědčí např. současná metanolová aféra), na předních místech však stále zůstávají především **etanol, oxid uhelnatý, léky, drogy** (viz str. 14), přičemž drogy se stávají stále významnějším agens.

## Důvody toxikologických vyšetření a kdo je provádí

Důvod toxikologického vyšetření	Pracoviště	Poznámky
<b>akutní otravy</b>	<b>oddělení klinické biochemie</b>	většinou pro pacienty na odděleních ARO či JIP; často se jedná o ohrožení života pacienta, proto je důležitá rychlost dosažení výsledku, který má alespoň kvalitativně určit, zda se jedná o otravu a čím
<b>toxikomanie/toxikomani</b>	laboratoře klinické toxikologie	nově zachycení, léčení; analýza nebývá urgentní
<b>otravy vzniklé v průběhu pracovního procesu</b>	toxikologické laboratoře kliniky (oddělení) pracovního lékařství	v průmyslu, zemědělství, desinsekci apod.): nejedná se o urgentní vyšetření, obvykle se ví o jakou <i>noxu</i> (jed) jde; tato problematika spadá do oboru <i>profesionální toxikologie</i>
<b>otravy s podezřením na trestný čin (forenzní toxikologie)</b>	toxikologické laboratoře soudního lékařství	provádí i analýzu hladiny alkoholu u řidičů a pracovníků a toxikologické vyšetření mrtvých osob
<b>kontrola dopingů</b>	antidopingové laboratoře	
<b>toxické látky v potravinách, vodě, ovzduší, v životním prostředí</b>	laboratoře hygienické služby	
<b>hladiny léků</b>	oddělení klinické farmakologie či oddělení klinické biochemie	
<b>experimentální otravy</b>	farmakologické ústavy vysokých škol, Výzkumný ústav pro farmaci a biochemii, Státní zdravotní ústav	výzkumné práce apod.

**Poznámka:** toxikologické analýzy jsou roztržštěné a jsou prováděny na mnoha pracovištích; neexistuje komplexní pracoviště provádějící veškeré toxikologické analýzy

## Toxikologická analýza

### Materiál k analýze

- krev (10 – 20 ml)
- moč (50 ml)
- zvratky (50 ml)
- výplach žaludečního obsahu (50 ml)
- vydechovaný vzduch
- vlasy
- nehty

Volba materiálu často závisí na době, která uplynula od expozice jedu – viz následující tabulka.

#### Přehled druhů vyšetřovaného materiálu ve vztahu k době, která uplynula od expozice jedu

Zachycení expozice	Biologický materiál
Bezprostřední	Vydechovaný vzduch
Před několika málo hodinami	Krev, sérum, žaludeční obsah
Před několika hodinami až dny	Krev, moč
Před měsícem až rokem	Vlasy (1 cm odpovídá asi 1 měsíci)
Před půl rokem a více	Nehty (noxa se objeví asi za 6 měsíců v odstříhávané části)

### Metody a přístrojové vybavení užívané v toxikologické analýze

<b>screeningové metody</b>	rychlé, kvalitativní, dostatečně citlivé, často méně specifické (určují např. skupinu příbuzných látek)
<b>speciální metody</b>	na stanovení konkrétní látky (etanol, metanol aj.)

Obě skupiny metod mohou využívat stejné principy a často i přibližně stejné postupy a přístroje.

#### Chromatografické systémy

<b>chromatografie na tenké vrstvě (TLC)</b>	umožňují stanovit množství různorodých látek; je možná automatizace a denzitometrie (k TLC)
<b>plynová chromatografie (GC)</b>	vhodná pro těkavé látky – alkoholy, chlorované uhlovodíky + jiné látky po předchozí předanalytické úpravě
<b>vysokotlaká (vysokoúčinná, vysoceúčinná) kapalinová chromatografie (HPLC)</b>	lze stanovit velké spektrum látek

Důležitý je *vhodný způsob detekce*. GC a HPLC se často kombinují s *hmotovou spektrometrií* (MS) na velmi účinné analytické systémy.

## Spektrální analýza

<b>absorpční spektra izolované látky v ultrafialové (UV) nebo infračervené (IR) oblasti</b>	často stačí k identifikaci látky
<b>atomová absorpční spektrofotometrie (AAS)</b>	kvantitativní stanovení kovů (Pb, Cd, Pt, Al aj.)
<b>hmotová/hmotnostní spektrometrie</b>	

## Imunochemické metody

Principem je reakce specifické protilátky s látkou (jedem), která má často charakter haptenu. Metody lze automatizovat. Materiálem bývá moč nebo sérum.

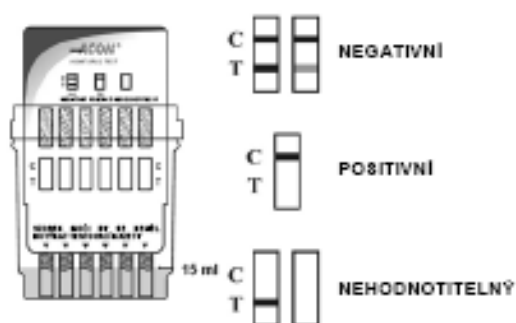
Velmi často bývají ve formě „kazetových testů“, které mají většinou **imunochromatografický princip**, tj. reakčních proužků či kazet, které jsou buď jednoúčelové (např. pro stanovení tricyklických antidepresiv, barbituranů, apod.) nebo víceúčelové (pro stanovení více látek současně, viz následující příklad). Tyto metody umožňují většinou pouze *skupinovou detekci* (např. opiáty bez určení, zda se jedná o morfin, kodein či heroin), ale existují i provedení pro detekci konkrétní drogy. Jsou to metody velmi rychlé (celé stanovení se děje během 10 – 15 min) a pro orientační detekci vyhovující. Nelze je však použít pro *forenzní účely*.

**Příklad:** Kazeta **TRIAGE** (dodává firma MERCK, vyrábí Biosite® Inc.). Stanovují se parametry *methadon, benzodiazepiny, kokain, amfetamin/metamfetamin, tetrahydrocannabinol, opiáty, barbituráty, tricyklická antidepresiva*. Kazeta také obsahuje pozitivní a negativní kontrolu (funkčnosti testu).

Do kazety se pipetuje moč a během 11 minut lze vizuálně hodnotit výsledek (pozitivní, negativní – vytvoří se nebo se nevytvoří barevný proužek; u některých souprav jiných výrobců je tomu opačně – nevytvořený proužek značí pozitivitu testu). Pozitivní je test tehdy, přesahuje-li koncentrace drogy ve vzorku určitý limit, který se u různých výrobců a různých provedení testů liší (rozdílná citlivost metod). Je nutno vždy studovat příbalový leták výrobce.

Principem je kompetice *chemicky značené* drogy s drogou, která může být přítomna v moči, o vazebné místo na (myší) monoklonální protilátce. Vytvořený komplex droga-protilátka se přenesl na detekční membránu, kde je vázaná další protilátka a zde dojde k vizualizaci *sendvičového komplexu*.

### ODEČTENÍ A INTERPRETACE VÝSLEDKU



Na obrázku vlevo převzatém z komerčního materiálu firmy INLAB Medical s.r.o., je schematicky znázorněno odečítání výsledků z testovací kazety na 6 drog.

**C** = kontrolní proužek: musí se vytvořit, jinak je výsledek testu nehodnotitelný

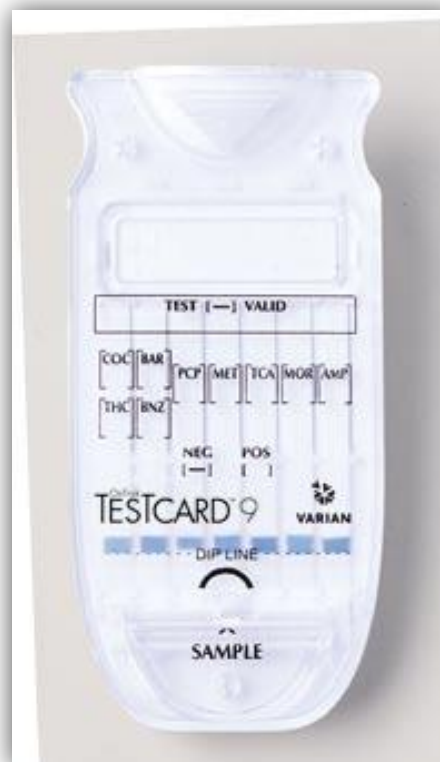
**T** = testovací proužek: vytvoří-li se, je vzorek na danou drogu negativní, chybí-li je vzorek na drogu pozitivní (v obou případech se musí vytvořit „C“ proužek)

**Poznámka:** Komerčně jsou k dostání i testy na jednotlivé drogy

Jak je zřejmé, jedná se o rychlý, snadno proveditelný kvalitativní test nevyžadující přístrojové vybavení, sloužící k předběžnému potvrzení či vyvrácení předpokladu přítomnosti očekávané drogy. Pozitivní nález musí být následován kvantitativní analýzou specifickým testem (na specializovaném pracovišti).



Přístroj firmy *Biosite® Inc* na odečítání výsledků z kazet *Triage®* pro potřeby POCT.  
Vpravo od přístroje kazeta druhé generace *Triage® TOX Drug Screen*  
Podrobnosti na [www.biosite.com](http://www.biosite.com)



TestCard™ 9 firmy *Varian, Inc., USA*; kazeta na 9 skupin drog  
<http://www.varianinc.com/cgi-bin/nav?products/dat/testcard9-process&cid=LOHIKKQLFO>

## Ostatní metody

Nález spor jedovatých hub v *mikroskopu*, průkaz jedu *pokusem na zvířeti* apod. – vzácné, speciální způsoby průkazu jedu.

Nové trendy se vyznačují nástupem *biočipů* a *mikroarrayí*, které lze užít i pro stanovení drog /viz *Dodatek*.

## Klasická toxikologická analýza

### Systematické toxikologické vyšetření

Se vzorkem se provedou tyto základní postupy:

Postup	Zjistí se
mineralizace	kovy ( <i>následuje AAS, polarografie apod.</i> )
okyselení a destilace s vodní parou	organická rozpouštědla, alkoholy, fenoly, organické kyseliny ( <i>následuje další analýza na druh látky</i> )
okyselení a extrakce	barbiturany, salicylany
alkalizace a extrakce	alkaloidy, fenothiaziny, sulfonamidy aj.

**Poznámka:** Systematické toxikologické vyšetření se provádí, není-li známa příčina otravy.

**Extrakce:**

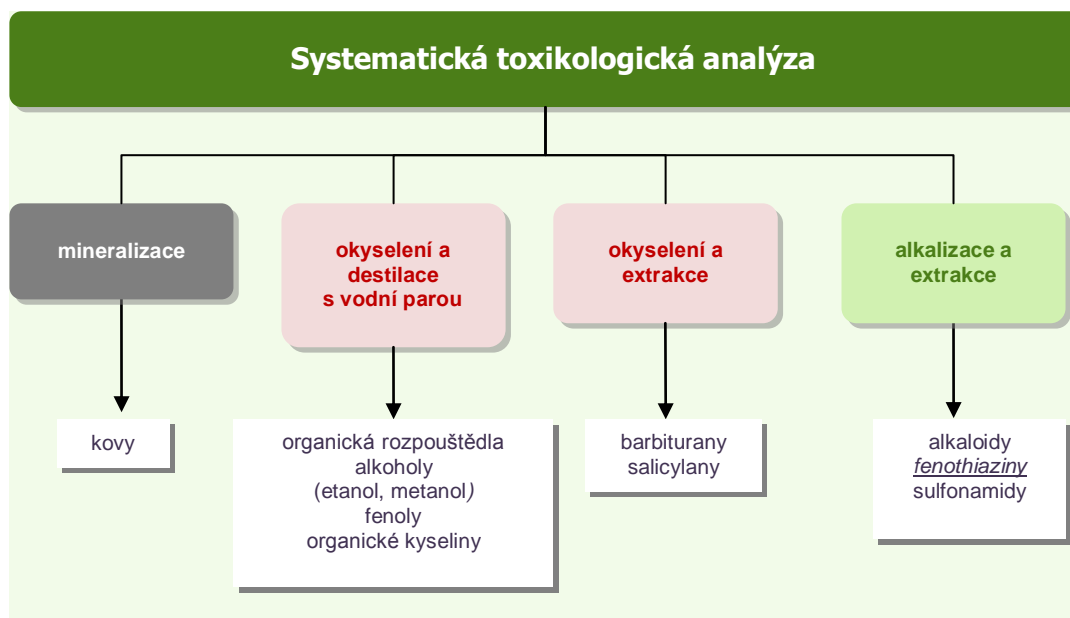
- vytřepávání do organického rozpouštědla
- na sloupci křemeliny (např. *Extrelut* firmy *Merck*)
- na upravené celulóze (např. *Celutex*, ČR)

**Obecné postupy na upravené celulóze:****Kyselá extrakce**

- nanesení okyseleného vzorku na kolonu, vsáknutí vzorku
- promývání organickým rozpouštědlem

**Alkalická extrakce**

- nanesení alkalického vzorku na kolonu
- syčení parami amoniaku
- promývání organickým rozpouštědlem

**Vyhledávání léčiv – barevné tečkovací reakce podle Večerkové**

Při vyhledávání léčiv se rozlišují dvě třídy: *kyselá-neutrální* a *alkalická-neutrální* léčiva (drogy). Odtud pramení i dvojí extrakce z biologického materiálu – kyselá a alkalická

**Extrakce z biologického materiálu****A. Kyselá**

1. okyselení HCl na pH 3-4
2. extrakce do éteru
3. odpaření do sucha
4. rozpuštění *sušiny* v malém množství alkoholu



**B. Alkalická**

1. alkalizace pevným uhlíčanem sodným na pH 9 – 10
2. 3. 4. viz postup A.

**Další postup:** Extrakty se nanesou do deseti bodů o průměru cca 1 cm na chromatografický papír *Whatman č. 1* (případně na silikagel či jinou chromatografickou desku).

Na každý bod se kápne po kapce činidla:

č.	Činidlo
1	Kyselina sírová
2	Marquisovo činidlo ( <i>formaldehyd + kyselina sírová</i> )
3	Fröhdeho činidlo ( <i>molybdenan amonný a kyselina sírová</i> )
4	p-dimethylaminobenzaldehyd
5	Síran ceričitý
6	Chlorid zlatistý
7	Dragendorfovo činidlo ( <i>roztok jodidu draselného a dusičnanu vizmutitého ve zředěné kyselině chlorovodíkové</i> )
8	Jodoplatičitan draselný
9	Kyselina dusičná
10	Chlorid železitý

Podle výsledků jednotlivých reakcí lze zařadit látku do jedné z pěti tříd systému. Pomocí tabulek je možno podle odstínu dále diferencovat. Touto metodou se určují *skupiny léčiv*, tj. látek konstitučně blízkých. Jednotlivé léčivo lze určit pouze výjimečně.

**Skupina Ia:** Psychofarmaka typu chlorpromazinu (Plegomazin), chlorprothixenu (Chlorprothixen), amitriptylinu (Amitriptylin) a antihistaminika difenylhydraminová. Jsou to báze přecházející do organické fáze hlavně z alkalického prostředí

**Skupina Ib:** Alkaloidy typu morfia. Báze přecházející hlavně z alkalického prostředí. Guajfenezin (Guajacuran) přechází z kyselého prostředí (výjimka).

**Skupina II:** Patří sem tři podskupiny léčiv: deriváty p-aminobenzoové kyseliny (typ prokainu), sulfonamidy a pyrazolová analgetika (typ amidopyrinu). Přecházejí z kyselého i alkalického prostředí.

**Skupina III:** Psychofarmaka typu imipraminu (Melipramin) a cetirizinu (Analerģin). Přecházejí z alkalického prostředí. Vzájemně se rozlišují pomocí činidla č. 5.

**Skupina IV:** Dosulepin (Prothiaden) a thiamazol (Thyrozol). Přecházejí z alkalického prostředí, rozlišitelné jsou činidlem č. 1 (Prothiaden uhelnatý).

Třída	Činidlo							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Ia	+!	+	+	±	±	±	±	+
Ib	+	+!	+	±	+	±	±	±
II	-	-	-	+!	±	+	±	±
III	-	-	-	-	+!	+	+	+
IV	uhel!-	-	-	-	-	+!	-	+

+! = reakce charakteristická pro skupinu; + = reakce pozitivní; - = reakce negativní; ± = některé látky skupiny dávají reakci pozitivní, jiné negativní

Provede se rozřídění (diferenciace) do skupin podle citlivosti k činidlům a dále podle tabulek odstínů. Skupiny představují skupiny léčiv konstitučně blízkých, pouze ojediněle lze určit jednotlivá léčiva.

Rozeznávají se i *V.* a *VI.* skupina. Některé léky tento systém nezachycuje – např. barbiturany a benzodiazepiny (*Diazepam*)

**Pro bližší určení následuje** chromatografie na tenké vrstvě:

### **Kyselý výtřepok**

Soustava: etylacetát-etanol-amoniak v poměru 36:2:2

#### **Detekce:**

- rtuťnaté činidlo (precipitát) a difenylkarbazon (*modré nebo purpurové zbarvení*) : *barbiturany*
- chlorid železitý: *salicylany*
- diazotovaný p-nitranilin: *fenacetin*

### **Alkalický výtřepok**

Soustava: etylacetát-etanol-amoniak v poměru 36:2:2

#### **Detekce:**

- *Dragendorfovo činidlo: alkaloidy*
- *Forestovo činidlo* (tj. chlorid železitý, kyselina chloristá a kyselina dusičná): *fenothiazin a jiné látky*

## **Příklady stanovení jednotlivých léčiv**

### *Barbiturany*

Stanovení barbituranů patřilo svého času mezi povinná statimová vyšetření na pracovištích klinické biochemie s nepřetržitým provozem. Tato léčiva byla jednak oblíbeným nástrojem (zejména v kombinaci s alkoholem) nešťastníků toužících ukončit svůj pobyt na tomto světě, jednak i náhodným činitelem otrav, stačí si uvědomit, že např. barbituranové pufrý (veronalové pufrý) dodnes patří mezi oblíbené pufrý při elektroforéze celkových bílkovin krevního séra.

Barbiturany patří mezi analgetika, sedativa, antileptika, která se dále dělí na

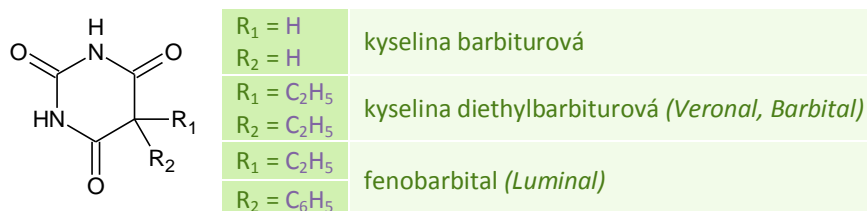
- krátce působící: pentobarbital, secobarbital (15 minut až několik hodin)
- středně dlouho působící: alobarbital, amobarbital (rozmezí několika hodin)
- dlouhodobě působící: fenobarbital, barbital (až 48 hodin).

Působí na mozkový kmen a kůru mozkovou, snižují krevní tlak; předávkování vede k útlumu až smrti. Zvl. nebezpečná je kombinace s alkoholem, případně s heroinem nebo kokainem, protože může skončit smrtí jedince.

Analýzovaný materiál obsahuje *metabolity* barbituranů, u dlouhodobě působících barbituranů i *vlastní drogu*.

## Metody stanovení

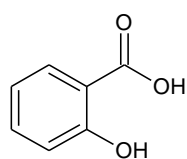
1. *Reakce s kobaltnatými solemi v alkalickém prostředí (Zwicker):* fialové zbarvení (nespecifická, málo citlivá reakce)
2. *Nepřímé stanovení:* tvorba komplexu se rtuťnatými solemi po extrakci barbituranů do chloroformu; komplex se stanoví reakcí (titrací) s difenylkarbazonem nebo s dithizonem; stanovení je nespecifické, nutno doplnit např. TLC  
*Souprava PLIVA-Lachema Diagnostika:* Barbiturany (BARB 25): Barbiturany se vyextrahují z biologického materiálu (sérum, celá krev; moč a žaludeční výplach po předchozí úpravě) chloroformem a převedou se na komplexní rtuťnatou sůl. Ekvivalentní množství rtuťnatých iontů se stanoví titrací difenylthiokarbazonem.
3. *Spektrofotometrie v UV oblasti*
4. *Chromatografie na tenké vrstvě (TLC):* různé postupy, např. vyvíjení v systému *chloroform-izopropanol-amoniak (9:9:2)*, detekce síranem rtuťnatým nebo difenylkarbazonem v chloroformu, podle druhu léku se vyvíjejí sytě fialové nebo fialové červené skvrny
5. *Imunochromatografie – kazetový/proužkový test, samostatný* nebo v kombinaci s dalšími drogami a léčivy
6. *Polarografie, plynová (GC) nebo kapalinová (HPLC) chromatografie, EIA*



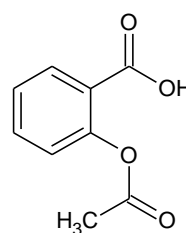
Význam stanovení barbituranů v poslední době upadl, protože byly na farmaceutickém trhu nahrazeny jinými léky, zejména *benzodiazepiny* (což je tzv. druhá generace hypnotik, např. midazolam), resp. třetí generací hypnotik (tzv. *selektivní agonisté ω-benzodiazepinových receptorů*, např. zopiclon, zolpidem). Barbiturany se užívají minimálně, v podstatě už jen antiepileptikum fenobarbital (Phenaemal, Phenaemalthen a Luminal), nitrožilní anestetikum thiopental (Thiopental) a v připravovaných přípravcích. Nicméně imunochromatografické rychlotesty pro stanovení barbituranů jsou stále na trhu.

## Salicylany

Asi neznámějším a pravděpodobně i nejužívanějším léčivem je Acylpyrin (originální název z firmy Bayer je aspirin) a jeho analoga. Léky na bázi kyseliny salicylové.



kyselina salicylová



kyselina acetylsalicylová (*Acylpyrin*)

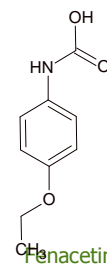
Tato zdánlivě neškodná látka (Acylpyrin) může při nadýchání způsobit kašel, dušnost, bolest na hrudi, při požití velkého množství způsobuje bolest žaludku, zvracení, zrychlené dýchání; je zde možnost závažných dýchacích potíží a poruch kardiovaskulárního systému.

## Metody stanovení

1. *Kapkovací reakce:* roztok chloridu železitého ⇒ fialové zbarvení
2. *Fotometrie při 530 nm (po předchozí úpravě):* monitorování léčby

## Fenacetin

Fenacetin, N-acetyl-p-fenetidin, je antipyretikum a antineuralgikum, nachází se jen v připravovaných přípravcích (*magistraliter*, v lékárně), dlouhodobé podávání může způsobit poškození ledvin (tzv. *analgetickou nefropatii*).



### Metody stanovení

1. *Orientačně*: v moči po okyselení s diazotovaným  $\alpha$ -naftolem  $\Rightarrow$  červené zbarvení
2. *Chromatografie na tenké vrstvě*:  
*Kyselý výtřeppek*, chloroform-aceton (9:1)  
*Detekce*: zředěná kyselina dusičná nebo diazotovaný p-nitroanilin

## Alkaloidy

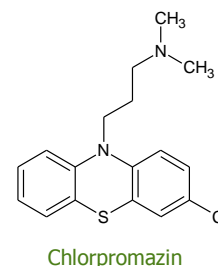
Alkaloidy jsou produkty metabolismu rostlin. Jsou to složité organické dusíkaté sloučeniny zásadité povahy. Jsou špatně rozpustné či nerozpustné ve vodě, dobře v organických rozpouštědlech. Vyznačují se často velmi silným účinkem na živý organismus, mnohé z nich jsou prudké jedy. Popis jejich účinků a stanovení jednotlivých alkaloidů nejsou součástí tohoto textu.

### Metodika

1. *Orientačně*: *KAYova zkouška - Kayovo činidlo* ( $\text{HgJ}_2 \cdot \text{KJ}$ , koncentrovaná kyselina octová) se smíchá s močí, vznikne zákal, který po varu zmizí a po ochlazení se objeví (POZOR na BÍLKOVINY!)
2. *Chromatografie na tenké vrstvě*: silikagel + sádra (pojídlo; silufol se nedá použít), soustava metanol:amoniak (10:0,15)
3. *Detekce*: jodoplatičitan draselný  $\Rightarrow$  na růžovém pozadí škála barev
4. *Plynová a kapalinová chromatografie, EMIT*

## Fenothiaziny

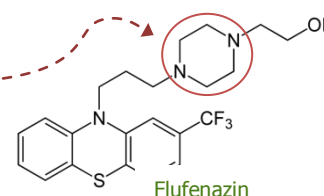
Psychofarmaka ze skupiny psycholeptik, což jsou antipsychotika a neuroleptika.



Základem fenothiazinů s alifatickým postranním řetězcem je *chlorpromazin*

[10-(3-dimethylaminopropyl)-3-chlorfenothiazin]. Inhibují obě cholinesterázy.

Fenothiazinem s *piperazinovým jádrem* je flufenazin, který v současnosti však již není na trhu.



### Metody stanovení

1 díl *Forestova činidla* + 1 díl moče = růžové až fialové zbarvení

**Diferenciace fenothiazinů**: chromatografie na tenké vrstvě (TLC)

*Alkalický výtřeppek*: chloroform-izopropanol-amoniak (10:5:0,1)

*Detekce*: *Forestovo činidlo*  $\Rightarrow$  podle preparátu škála zbarvení od modré přes fialovou do červenofialové

## Stanovení etanolu

*Vstřebávání:* žaludek 20%, střevo 80%

*Metabolismus:* játra 95%

*Vylučování:* moč, dech (cca 5%)

Hodnoty etanolu v krvi a jejich projevy	
< 0,3 promile	fyziologická hladina
0,3 - 1,0 promile	podnapilost
1,0 - 1,5 promile	mírná opilost
1,5 - 2,0 promile	opilost
> 2,0 promile	těžká opilost
kolem 3,0 promile	intoxikace alkoholem

### Metodika

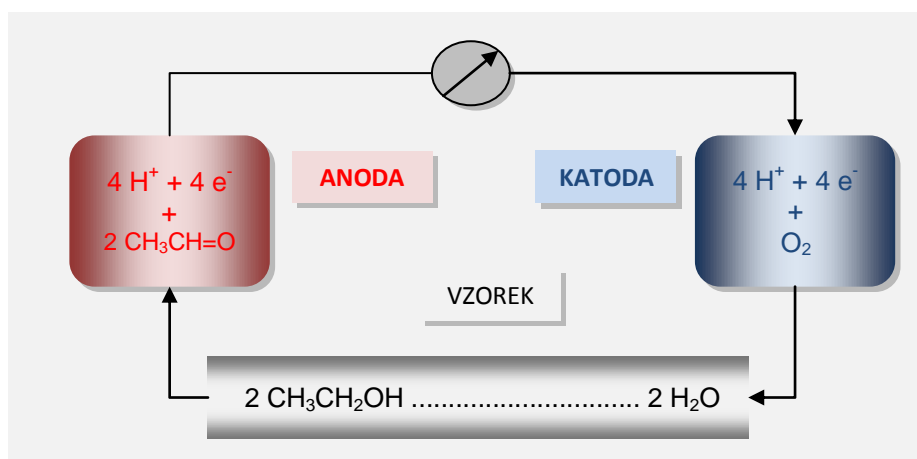
1. *Plynová chromatografie* (úprava.dle Machaty). Pracuje se tzv. *headspace* technikou: vychází se z faktu, že tlak par alifatických alkoholů s krátkým řetězcem (a acetonu) je natolik významný, že příslušný alkohol je přítomný v měřitelném množství ve vzdušném prostoru (tj. *headspace*) nad kapalným vzorkem. Porci tohoto plynného podílu lze nanést na chromatograf a analyzovat. Krev či sérum je třeba před analýzou naředit nasyceným roztokem chloridu sodného s obsahem n-propanolu jako vnitřního standardu. Chlorid sodný posiluje tlak par alkoholu a eliminuje matricové rozdíly mezi vodnými roztoky kalibrátorů a proteinovými vzorky krve či séra.
2. *Widmarkova reakce* (pro soudní účely v tzv. Weyrichově modifikaci): etanol oddestilovaný z krve se oxiduje *Widmarkovým činidlem*, tj. dichromanem draselným v koncentrované kyselině sírové. Přebytek dichromanu se stanoví jodometrickou titrací.
3. *Schmidtova zkouška* (orientační): zahřívání s alkalickým roztokem chromanu draselného; v přítomnosti etanolu se vyvíjejí modrozelené páry
4. *Enzymatické stanovení*: optický test s alkoholdehydrogenázou
5. *Trubičkový indikátor*: reakce s dichromanem draselným (oranžová barva sloučeniny šestimocného chromu se změní na modrozelenou barvu solí chromu trojmocného)
6. *Elektrochemická detekce*: Alcotest 7410 Plus com – digitální tester pro orientační měření alkoholu v krvi (používá policie ČR)

### Princip elektrochemické detekce

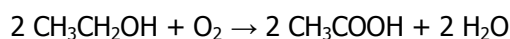
Koncentrace alkoholu v dechu je zajišťována pomocí elektrochemického článku, který analyzuje přesně definovaný vzorek vydechnutého vzduchu. Při přeměně/oxidaci alkoholu na acetaldehyd v prostoru senzoru se uvolňují elektrony. Tento proud elektronů je měřen a následně vyhodnocován zabudovaným mikroprocesorem. Vysoká selektivita senzoru zaručuje netečnost vůči dalším substancím, obsaženým ve vydechovaném vzduchu, např. acetonu.

**Sumární reakce:**  $2 \text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \text{O}_2 \rightarrow 2 \text{CH}_3\text{CH}=\text{O} + 2 \text{H}_2\text{O}$

### Schématický průběh reakcí:



Přesné přístroje nevyužívají polovodičové senzory závislé na teplotě, ale tzv. *palivové články (fuel cell)*, kde se alkohol oxiduje až na kyselinu octovou:



V obou případech je naměřený proud přímo úměrný množství alkoholu ve vydechovaném vzduchu.

Podrobnosti k alkoholtesterům viz např. zde:

<http://www.wikiskripta.eu/index.php/Elektrochemick%C3%A9%20stanoven%C3%AD%20etanolu%20ve%20vydechovan%C3%A9m%20vzduchu>

Princip měřící cely (palivového článku, fuel cell) včetně schématu: <http://www.intox.com/t-FuelCell.aspx>



Vlevo na obrázku *Alcotest 7410 Plus com*, uprostřed nejnovější typ *Alcosensor IV* spolu s tiskárnou, vpravo přístroj pro domácí použití *AL6000*

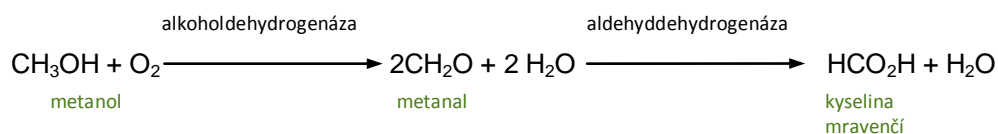
Podrobnosti k odběrům viz Věstník MZDr:

[http://www.mzcr.cz/Legislativa/dokumenty/vestnik\\_3671\\_1775\\_11.html](http://www.mzcr.cz/Legislativa/dokumenty/vestnik_3671_1775_11.html)

## Stanovení metanolu

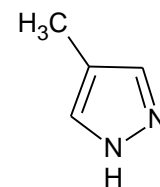
Poškozují CNS: může dojít až k oslepnutí. Metylalkohol se z cca 80% pomalu metabolizuje za přispění alkoholdehydrogenázy na formaldehyd (metanal) a dále na kyselinu mravenčí, která vede k těžké metabolické acidóze a poškozují buňky oční sítnice. Slepota byla popsána již po požití 15 ml metanolu,

smrt po 30 – 240 ml. Detoxikace kyseliny mravenčí se uskutečňuje za účasti *kyseliny listové* (viz kreditní kurz Vitamíny). Etylalkohol je lepším substrátem pro alkoholdehydrogenázu než metylalkohol, odtud plyne léčba těchto otrav etylalkoholem.



### Metody stanovení

1. *Ozburnova zkouška* - orientační: metanol je oxidován manganistanem draselným na formaldehyd, který s kyselinou chromotropovou v prostředí koncentrované kyseliny sírové dává fialové zbarvení (citlivé, specifické stanovení vhodné pro každý biologický materiál)
2. Schéma reakce:  $\text{CH}_3\text{OH} + \text{KmnO}_4 = \text{HCHO}$
3. *Plynová chromatografie (headspace)* analýza mravenčanu, toxického metabolitu metanolu, po esterifikaci na metylmravenčan)



Fomepizol  
4-methylpyrazol  
antidotum

## Chlorderiváty uhlovodíků

Řadí se mezi narkotika, do organismu vnikají nadechnutím či dlouhodobým stykem s kůží či sliznicemi. Působí toxicky na jaterní tkáň, ukládají se v tukové tkáni. Mimo jiné aktivují fibrinolytickou aktivitu. Metabolizují se na *kyselinu trichloroctovou*, která se vylučuje močí.

Jedná se především o

- trichloretylen  $\text{CHCl}=\text{CCl}_2$
- metylenchlorid  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$
- chloroform  $\text{CHCl}_3$
- tetrachlormetan  $\text{CCl}_4$  (chlorid uhličitý)

### Metody stanovení

1. *Orientačně: Fujiwarova reakce*: moč + pyridin + 50% NaOH, protřepe se a zahřeje na vroucí vodní lázni, horní pyridinová vrstva může mít škálu zbarvení růžová – červená – fialová
2. *Plynová chromatografie*

## Organofosfáty

Jsou organické estery kyseliny fosforečné

- prostředky na hubení hmyzu
- bojové látky

Působí především jako inhibitory cholinesterázy. Otrava může skončit smrtí.

### Metody stanovení

1. *Stanovení cholinesterázy* (viz kapitola Enzymy)

2. *Orientačně: stanovení aktivity cholinesterázy na indikátorovém proužku s vhodným substrátem – uvolněná kyselina (octová, máselná) mění barvu přítomného acidobazického indikátoru – čím rychlejší změna, tím aktivnější enzym*

## Oxid uhelnatý

Vazbou oxidu uhelnatého na hemoglobin vzniká *karbonylhemoglobin* (COHb), který není schopen přenášet kyslík. Vazba CO na hemoglobin je vratná a CO z vazby lze vytěsnit přívodem kyslíku.

Oxid uhelnatý se váže i na *myoglobin* v mozku a v játrech.

*Intoxikace oxidem uhelnatým* nastává při koncentraci COHb > 20%

- akutní: ztráta vědomí, smrt
- chronická: bolesti hlavy, nechutenství, malátnost, zadýchávání se, úzkost, zhoršování inteligence, halucinace

### Metody stanovení

1. Průkaz CO: ve vydechovaném vzduchu trubičkovým detektorem
2. Průkaz HbCO: v krvi, na základě jeho větší rezistence k fyzikálním vlivům (ve vztahu k hemoglobinu a oxyhemoglobinu)- louh, tanin, var (v citronanu sodném, v acetátovém pufru):
  - Hoppe-Seylerova zkouška  
1 díl krve + 1 díl 30% NaOH, promíchat, protřepat  
+: jasně červená sraženina  
-: hnědá sraženina
  - Kunkelova zkouška  
1 díl krve zředěné vodou (1:2) + 3 díly 1% roztoku taninu  
+: jahodově červená sraženina  
-: hnědá sraženina  
Při nižších koncentracích se odečítá po 30 i více minutách
  - Zkouška varem  
Krev v roztoku citronanu sodného se zahřívá 1 – 2 minuty ve vroucí vodní lázni  
+: červená sraženina (pouze při obsahu COHb > 20%, malá citlivost)  
-: hnědá sraženina
  - Wolfova metoda  
Krev v acetátovém pufru o pH 5,5 se zahřívá přesně 5 minut ve vodní lázni při 55 °C ; v roztoku zůstane karbonylhemoglobin, ostatní sloučeniny hemoglobinu z roztoku vypadnou a následně se odfiltrují. Následuje fotometrie při 530 nm (odečet z kalibračního grafu) nebo srovnání se standardy (naředěné roztoky dusičnanu kobaltnatého)
  - Berkova metoda  
Krev + zředěná kyselina sírová + chlorid paladnatý  
Z chloridu se působením HbCO uvolňuje paladium a zbylý chlorid je možno stanovit pomocí p-nitrosodietylanilinu fotometricky



- Spektrofotometrická analýza

20  $\mu$ l krve + 5 ml saponinového roztoku v amoniaku o koncentraci 0,1 mol/l, promíchá se, zcentrifuguje, fotometruje se supernatant při vlnových délkách: 541, 561, 573, 577 a 579 nm

Z nomogramu se odečítají podíly a z nich se hodnotí výsledek:  $A_{573}/A_{579}$ ;  $A_{541}/A_{561}$ ;  $A_{577}/A_{561}$

## Poznámka k metodologii v toxikologické analýze

Každá laboratoř má své validované postupy toxikologické analýzy, které jsou závislé mj. i na přístrojovém vybavení a na ekonomických možnostech. Např. v TLC si buď připravuje laboratoř sama chromatografické plotny, vyvíjecí soustavy a detekční činidla (v současné době asi velmi ojedinele), nebo je kupuje jako kompletní soupravy na trhu.

Příkladem komerčně dostupné „toxikologické laboratoře“ je systém **TOXI•LAB** firmy **ANSYS, INC.** z Irvinu v Kalifornii, který na náš trh dodává německá firma **DRG** z Marburgu prostřednictvím českého zastoupení.

V principu se jedná o rychlé, citlivé a specifické stanovení širokého spektra látek tenkovrstvou chromatografií (TLC) na továrně vyrobených plotnách, které jsou dvojího typu – „A“ a „B“.

Desky „A“ jsou určeny k detekci bazických a neutrálních látek, detekce probíhá ve čtyřech etapách, každá etapa slouží k vizualizaci určitých látek a k potvrzení jejich nálezu (konfirmasi).

Desky „B“ jsou určeny k detekci kyselých a neutrálních látek a detekce probíhá ve dvou etapách.

Celý systém sestává z příslušných ploten, reagensí, standardních látek a obsáhlé databáze jednotlivých drog (obsahuje barevné fotografie rozdělených chromatogramů s vyhodnocením, s uvedením  $R_f$  a s dalšími podrobnostmi).

**WHEN THE UNKNOWN DRUGS DON'T MATCH THE STANDARDS**

When the drugs you see in the sample zone don't match the drug standards on TOXI-GRAMS A or B in the PHOTO-GRAM below, you can turn to the TOXI-LAB Drug Compendium or the TOXI-SEARCH Computer Program for help in finding possible candidates.

With these important aids, you can identify drugs with much greater ease, confidence, and accuracy than when you use merely classical TLC.

**TOXI-GRAM A**

3,4-methylendioxyamphetamine (MDA)  
3,4-methylendioxyamphetamine (MDA)  
1-(1-methylpiperonyl)pyrrolidine (MPPH)

**TOXI-GRAM B**

3,4-methylendioxyamphetamine (MDA)  
3,4-methylendioxyamphetamine (MDA)  
1-(1-methylpiperonyl)pyrrolidine (MPPH)

**TOXI-SEARCH**

**TOXI-SEARCH**

**TOXI-SEARCH**

**TOXI-SEARCH**

### Část prospektu k TOXI•LAB

**Postup analýzy** spočívá v extrakci látky, její koncentraci, nanesení na chromatografickou desku (plotnu), vyvíjení a detekci.

**Caféine**  
**Catéchine**  
**Complexe caféine / catéchine**

**Standards de Référence**  
(1, 2, 3, 4)

Malá ukázka vizualizovaných desek „A“

## Toxikomanie a drogy

Zcela na závěr kapitoly, ještě stručná zmínka o toxikomanii a drogách. Je to zajisté fenomén doby, proto se sluší alespoň stručně se o něm zmínit.

**Toxikomanie** (narkomanie, drogová závislost, v užším slova smyslu léková závislost) podle definice WHO (*World Health Organisation*, Světová zdravotnická organizace):

**Toxikomanie** je stav **psychický** nebo **fyzický**, vyplývající z působení léku nebo psychotropně účinné látky na organismus, charakterizovaný změnami chování a dalšími reakcemi, mezi něž patří zejména chorobné lpění na kontinuálním nebo opakovaném podávání psychotropně působící látky.

Příčinou onoho chorobného lpění jsou jak psychotropní účinky dané látky, tak také snaha zabránit nežádoucím stavům způsobeným její absencí.

**Abstinenční syndrom** je vyvolán náhlým nedostatkem účinné látky v organismu (po její předchozí opakované aplikaci). Projevují se u něho obecně opačné účinky (*remund efekty*), než jaké měla droga: např. nedostatek látek dráždivých CNS (amfetamin, kokain, které potlačují únavu, chuť k jídlu a zlepšují náladu) vyvolá únavu, hyperfagii (přejídání se, žravost) a depresi.

Drogy lze klasifikovat či dělit podle několika hledisek. Dále jsou uvedena dělení dle WHO a MKN-10.

### Klasifikace drog dle typu závislosti:

- alkoholovo-barbiturátový typ (ethanol, barbituráty)
- amfetaminový typ (amfetamin, metamfetamin, MDMA - extáze)
- halucinogenový typ (LSD, halucinogenní houby)
- cannabisový typ (marihuana, hašiš)
- opiátový typ (opium, morfin, dolsin, kodein, heroin)
- inhalační typ (toluen, chlorované uhlovodíky)
- khatový typ (khat, *Catha edulis*)
- kokainový typ (kokain, crack)

### Dělení drog podle schopnosti vyvolávat závislost a toleranci:

- *Především psychická závislost:* kokain, marihuana, amfetaminy, LSD a další halucinogeny
- *Psychická i fyzická závislost:* opioidy, barbituráty, alkohol aj.

### Klasifikace drog dle MKN-10 (<http://www.uzis.cz/cz/mkn/index.html>)

(Mezinárodní statistická klasifikace nemocí a přidružených zdravotních problémů, 10. Revize)

### Návykové a anabolické látky se rozdělují podle typu závislosti v souvislosti s MKN rev.10 na:

- *látky typu morfinu* (některé alkaloidy opia a syntetické a polosyntetické deriváty morfinu a kodeinu, např. heroin, methadon, Dolsin, roztok „brown“); jedná se o silná analgetika, působí narkoticky, vyvolávají silnou psychickou závislost, rychlý vývoj fyzické závislosti a nárůst tolerance
- *sedativa* (látky typu barbiturátů, anxiolytika s hypnotickým účinkem ve vyšších dávkách, např. Diazepam, Meproamat, Dinyl; psychická závislost má nerovnoměrnou intenzitu, fyzická časově omezený abstinenci příznak, který je u barbiturátů nahraditelný alkoholem a naopak, tolerance různě intenzivní
- *kokain* (např. kokové listy a hydrochlorid kokainu - crack); vyvolává silný povzbudivý účinek a velmi silnou psychickou závislost
- *kanabis* (hašiš, konopí - marihuana); vyvolávají psychickou závislost, fyzická závislost a tolerance nebyly zjištěny

- *psychostimulancia*, zvl. typu amfetaminu a léčiva tyto látky obsahující (pervitin, Fenmetrazin, efedrin) a látky typu "extáze" (MDMA, MDEA, MDA); silně stimulují CNS, vzniká výrazná psychická závislost, tolerance se projevuje formou častější aplikace
- *halucinogeny* (např. LSD a jeho deriváty, meskalin, psilocybin a přírodní produkty psilocybin obsahující - houby druhu lysohlávka, halucinogenní rostliny - durman); psychická závislost je rozdílná podle druhu, fyzická závislost zjištěna, tolerance se postupně vyvíjí
- *prchavé syntetické látky* (např. inhalace výparů z organických rozpouštědel, lepidel a čisticích prostředků); vyvolávají psychickou závislost, mají narkotické účinky
- *alkohol*
- *kombinace různých látek a kombinace látek s alkoholem*
- *anabolika* (růst svalové hmoty, sekundární mužské pohlavní znaky)

V této souvislosti je dobré se zmínit o moderních trendech v testování na přítomnost drog v biologickém materiálu. Zcela jistě v tomto oboru zaujímá jedno z předních míst firma RANDOX se svou řadou analyzátorů EVIDENCE pro biočipovou technologii (*Biochip Array Technology*).



Tyto obrázky a vysvětlení metod lze nalézt na adrese: <http://www.randoxtoxicology.com>

### [/biochip-array-toxicology-analysers](#)

K testování lze použít celou krev, moč, sliny, tkáň, vlasy, mekonium\*). Metody jsou založeny na mnohočetné kompetitivní imunoanalýze (viz kreditní kurz *Proteiny*). Výhodou je, že z jednoho vzorku se provede simultánně několikanásobná analýza. Stanovit se dají i léky, jak bude zmíněno v kurzu věnovanému TDI (analýze léčiv). Příkladem biočipové *arraye* může být např. *array DoA I+* (vpravo). Tyto *arraye* jsou určeny pro forenzní využití.

\*)**mekonium** = smolka, obsah střev plodu, který se tvoří z odloupaných buněk, žlučových barviv černozeleňá barva a hlenu

*Kreatinin je včleněn jako marker ředění v soupravách pro stanovení v moči.*

Doa I+
Amphetamine
Barbiturates
Benzodiazepine 1
Benzodiazepine 2
Buprenorphine
Cannabinoids
Cocaine metabolite (Benzoylcegonine)
Methamphetamine
Methadone
MDMA
Opiates
Phencyclidine
Tricyclic Antidepressants
Creatinine*



## Dodatek o zákonech a vyhláškách souvisejících s probíranou tématikou

Problematikou chemických látek se podrobně zabývá

- **zákon č. 157/1998 Sb. o chemických látkách a chemických přípravcích a o změně některých dalších zákonů a problematiku rozvádějí navazující předpisy, z nichž nejdůležitější jsou:**
- *nařízení vlády č. 25/1999 Sb.*, kterým se stanoví postup hodnocení nebezpečnosti chemických látek a přípravků, způsob jejich klasifikace a označování a vydává se seznam dosud klasifikovaných nebezpečných chemických látek
- *vyhláška č. 26/1999 Sb.*, ministerstva průmyslu a obchodu o způsobu provedení a označení obalů nebezpečných chemických látek a přípravků
- *vyhláška č. 27/1999 Sb.*, ministerstva průmyslu a obchodu o formě a obsahu bezpečnostního listu k nebezpečné chemické látce a přípravku
- *vyhláška č. 232/2004 Sb.*, ministerstva průmyslu a obchodu, kterou se provádějí některá ustanovení zákona o chemických látkách a chemických přípravcích a o změně některých zákonů, týkající se klasifikace, balení a označování nebezpečných chemických látek a chemických přípravků
- *vyhláška č. 369/2005 Sb.*, ministerstva průmyslu a obchodu, kterou se mění vyhláška č. 232/2004 Sb.
- *vyhláška č. 301/1998 Sb.*, ministerstva životního prostředí, kterou se stanoví seznam chemických látek a chemických přípravků, jejichž výroba, uvádění na trh a používání je omezeno
- *vyhláška č. 302/1998 Sb.*, ministerstva životního prostředí, kterou se stanoví bližší podmínky odborné způsobilosti a postup při jejím ověřování, postup prokazování zdravotní způsobilosti, postup při udělování a odnímání autorizace, seznam vybraných nebezpečných látek a přípravků, jejich dovoz a vývoz je možný jen se souhlasem MŽP, obsah žádostí o dovoz a vývoz a způsob a podrobnosti vedení evidence a oznamování nebezpečných chemických látek a přípravků

<b>Důležité instituce:</b>	<b>WEB</b>
Toxikologické informační středisko:	<a href="http://www.tis-cz.cz/">http://www.tis-cz.cz/</a>
První pomoc při otravách:	<a href="http://vfn.lf1.cuni.cz/tis/pomoc.html">http://vfn.lf1.cuni.cz/tis/pomoc.html</a>
<b>Prohloubení studia:</b>	
Viktor Voříšek, Ústav klinické biochemie a diagnostiky LF UK a FN v Hradci Králové: Toxikologická analýza v moči – drogy, léky a jejich metabolity	<a href="http://www.ped.muni.cz/wsedu/data/File/drogy/Luha/Typy_drg.pps?sid=9d5bb_b05fef88a593b916248ab74b34e">www.ped.muni.cz/wsedu/data/File/drogy/Luha/Typy_drg.pps?sid=9d5bb_b05fef88a593b916248ab74b34e</a>
Petr Kachlík, Luhačovice 2004, Typy a účinky drog: (podle tohoto materiálu byl zpracován odst. 17.5.)	<a href="http://www.cskb.cz/res/file/akce/2009/brno/Vorisek.pdf">http://www.cskb.cz/res/file/akce/2009/brno/Vorisek.pdf</a>
Luděk Šprongl, Možnosti ultrarychlé toxikologické diagnostiky u akutních příhod toxikomanů.	<a href="http://www.zdn.cz/clanek/postgradualni-medicina/moznosti-ultrarychle-toxikologicke-diagnostiky-u-akutnich-prihod-137225">http://www.zdn.cz/clanek/postgradualni-medicina/moznosti-ultrarychle-toxikologicke-diagnostiky-u-akutnich-prihod-137225</a>
Rusek, Základy toxikologie	



## Zákon 157/1998 Sb. o chemických látkách a chemických přípravcích a o změně některých dalších zákonů

(Zpracováno podle: Ing. Vlastimil Rusek, Základy toxikologie a úvod do problematiky hygieny a bezpečnosti práce v chemické laboratoři, Univerzita Pardubice, Ústav ochrany životního prostředí, Pardubice 2001)

Zákon 157/1998 Sb. je platný od 1. 1. 1999. Nahrazuje zrušené nařízení vlády 192/1988 Sb. o jedech a jiných látkách škodlivých zdraví, novelizován byl zákony 352/1999 Sb., 132/2000 Sb., 258/2000 Sb. a 458/2000 Sb. Zákon definuje základní pojmy včetně pojmu nebezpečná látka a přípravek, což jsou látky a přípravky vykazující jednu nebo více tzv. **nebezpečných vlastností**, které rovněž definuje.

### Základní pojmy zjednodušeně

	Označení	Popis nebezpečných vlastností	Kdo stanovuje metody pro zjišťování nebezpečných vlastností
a)	<b>výbušné</b>	extrémní reakce (i bez přítomnosti kyslíku) za vzniku plynu, detonace prudkého shoření, výbuch	Český báňský úřad
b)	<b>oxidující</b>	s jinými látkami (např. hořlavými) vyvolávají vysoce exotermní reakce	Ministerstvo vnitra
c)	<b>extrémně hořlavé</b>	bod vyplanutí nižší než 0° C a bod varu nižší než 35° C anebo v parách vznětlivé ve vzduchu za normální teploty a tlaku	Ministerstvo vnitra
d)	<b>vysoce hořlavé</b>	např. bod vzplanutí nižší než 21° C (a nejsou extrémně hořlavé), případně při styku s vlhkostí uvolňují hořlavé plyny atd.	Ministerstvo vnitra
e)	<b>hořlavé</b>	bod vzplanutí 21° C až 55° C	Ministerstvo vnitra
f)	<b>vysoce toxické</b>	při vdechnutí, požití nebo proniknutí kůží mohou i ve velmi malém množství způsobit akutní nebo chronické poškození zdraví nebo smrt	Ministerstvo zdravotnictví
g)	<b>toxické</b>	totéž jako předcházející případ, pouze množství není definováno	Ministerstvo zdravotnictví
h)	<b>zdraví škodlivé</b>	totéž jako předcházející případ	Ministerstvo zdravotnictví
i)	<b>žiravé</b>	ničí při styku živou tkáň	Ministerstvo zdravotnictví
j)	<b>dráždivé</b>	působící záněty tkání	Ministerstvo zdravotnictví
k)	<b>senzibilizující</b>	vyvolávají přecitlivělost	Ministerstvo zdravotnictví
l)	<b>karcinogenní</b>	zvyšuje četnost výskytu rakoviny	Ministerstvo zdravotnictví
m)	<b>mutagenní</b>	zvyšuje četnost genetických poškození	Ministerstvo zdravotnictví
n)	<b>toxické pro reprodukci</b>	zvyšuje výskyt nedědičných poškození potomků případně poškození reprodukčních schopností	Ministerstvo zdravotnictví
o)	<b>nebezpečné pro životní prostředí</b>	představují nebezpečí pro životní prostředí	Ministerstvo životního prostředí

**Poznámka:** S nebezpečnými látkami mohou nakládat pouze osoby starší 18 let, které jsou svéprávné. Osoby starší 15 let a mladší 18 let mohou pracovat s nebezpečnými látkami a přípravky (kromě látek výbušných) pouze v rámci přípravy na povolání, a to pod přímým dohledem autorizovaných osob, případně osob proškolených autorizovanou osobou. (Autorizované osobě byla na její žádost udělena **autorizace** ministerstvem životního prostředí po splnění určitých podmínek).

## Balení a označování nebezpečných látek

Tyto informace jsou zajímavé a důležité i z hlediska denní praxe ve zdravotnické laboratoři.

Látky nebezpečné musí být označeny výrazně a čitelně v českém jazyce a musí obsahovat tyto údaje:











- chemický resp. obchodní název nebezpečné látky
- identifikaci údaje výrobce, dovozce resp. distributora látky
- odpovídající výstražné symboly nebezpečnosti
- označení specifické rizikivosti látky (příslušné R-věty včetně textu)
- pokyny pro bezpečné nakládání (příslušné S-věty včetně textu)
- návod k použití a předlékařská první pomoc (při prodeji v maloobchodě)

Součástí nově uvedené látky uváděné na trh je její tzv. **bezpečnostní list**, který obsahuje identifikační údaje o výrobci či dovozci látky, o vlastní látce samé, o zkoušení nebezpečné látky na zvířatech a údaje potřebné pro ochranu zdraví člověka a životního prostředí. Tento bezpečnostní list by měl být k dispozici všem, kteří s nebezpečnou látkou mohou nakládat.

## Označení specifické rizikivosti nebezpečné látky nebo přípravku

Výstražný symbol nebezpečnosti zahrnuje grafický symbol nebezpečnosti (piktogram), případně písmenné vyjádření a slovní vyjádření nebezpečnosti. Dále jsou uvedeny výstražné symboly nebezpečnosti a jejich písmenné vyjádření (podle nařízení vlády ČR 25/1999 Sb.).

### Výstražné symboly nebezpečnosti a jejich písmenné vyjádření

<b>E</b>		<b>O</b>		<b>C</b>	
výbušný		oxidující		žiravý	
<b>F +</b>		<b>F</b>		<b>N</b>	
extrémně hořlavý		vysoce hořlavý		nebezpečný pro životní prostředí	
<b>T +</b>		<b>T</b>		<b>Xn</b>	
vysoce toxický		toxický		zdraví škodlivý	
		<b>Xi</b>			
		dráždivý			



Specifickou rizikovost označují standardní tzv. **R-věty** (*Risk phrases, rizikové věty*), které se uvádějí jak číselným symbolem, tak ve formě textu:

## Standardní R - věty označující specifické nebezpečí

*(Vynechaná čísla R-vět byla v Evropské Unii zrušena )*

### R-VĚTY

- R 1 V suchém stavu nebezpečí výbuchu
- R 2 Nebezpečí výbuchu při úderu, tření, ohni nebo působením jiných zdrojů vznícení
- R 3 Velké nebezpečí výbuchu při úderu, tření, ohni nebo působením jiných zdrojů vznícení
- R 4 Vytváří vysoce výbušné sloučeniny kovů
- R 5 Při zahřívání může dojít k výbuchu
- R 6 Výbušný za přístupu i bez přístupu vzduchu
- R 7 Může způsobit požár
- R 8 Nebezpečí ohně při styku s hořlavinami
- R 9 Nebezpečí výbuchu při styku s hořlavinami
- R 10 Hořlavý
- R 11 Vysoce hořlavý
- R 12 Extrémně hořlavý
- R 14 Prudce reaguje s vodou
- R 15 Při styku s vodou uvolňuje vysoce hořlavé plyny
- R 16 Výbušný při smíchání s oxidujícími látkami
- R 17 Samozápalný na vzduchu
- R 18 Při používání může vytvářet hořlavé nebo výbušné směsi par se vzduchem
- R 19 Může vytvářet výbušné peroxidy
- R 20 Zdraví škodlivý při vdechování
- R 21 Zdraví škodlivý při styku s kůží
- R 22 Zdraví škodlivý při požití
- R 23 Jedovatý při vdechování
- R 24 Jedovatý při styku s kůží
- R 25 Jedovatý při požití
- R 26 Velmi jedovatý při vdechování
- R 27 Velmi jedovatý při styku s kůží
- R 28 Velmi jedovatý při požití
- R 29 Uvolňuje jedovatý plyn při styku s vodou
- R 30 Při používání se může stát vysoce hořlavým
- R 31 Uvolňuje jedovatý plyn při styku s kyselinami
- R 31.1 Uvolňuje jedovatý plyn při styku s louhy
- R 32 Uvolňuje velmi jedovatý plyn při styku s kyselinami
- R 33 Nebezpečí kumulativních účinků
- R 34 Způsobuje poleptání
- R 35 Způsobuje vážné poleptání
- R 36 Dráždí oči
- R 37 Dráždí dýchací orgány
- R 38 Dráždí kůži

- R 39 Nebezpečí velmi vážných nezvratných účinků
- R 40 Možné nebezpečí nezvratných účinků
- R 41 Nebezpečí těžkého poškození očí
- R 42 Nebezpečí senzibilizace při vdechování
- R 43 Nebezpečí senzibilizace při styku s kůží
- R 44 Nebezpečí výbuchu při zahřátí v uzavřeném obalu
- R 45 Může vyvolat rakovinu
- R 46 Může způsobit dědičné genetické poškození
- R 48 Při dlouhodobé expozici nebezpečí vážného poškození zdraví
- R 49 Může vyvolat rakovinu při vdechování
- R 50 Velmi jedovatý pro vodní organismy
- R 51 Jedovatý pro vodní organismy
- R 52 Škodlivý pro vodní organismy
- R 53 Může vyvolat dlouhodobé škodlivé účinky ve vodním prostředí
- R 54 Jedovatý pro rostliny
- R 55 Jedovatý pro zvířata
- R 56 Jedovatý pro půdní organismy
- R 57 Jedovatý pro včely
- R 58 Může vyvolat dlouhodobé škodlivé účinky v životním prostředí
- R 59 Nebezpečný pro ozonovou vrstvu
- R 60 Může poškodit reprodukční schopnost
- R 61 Může poškodit plod v těle matky
- R 62 Možné nebezpečí poškození reprodukční schopnosti
- R 63 Možné nebezpečí poškození plodu v těle matky
- R 64 Nebezpečí poškození kojence mateřským mlékem

### **KOMBINACE R-VĚT**

- R 14/15 Prudce reaguje s vodou za uvolňování vysoce hořlavých plynů
- R 15/29 Při styku s vodou uvolňuje jedovatý a vysoce hořlavý plyn
- R 20/21 Zdraví škodlivý při vdechování a styku s kůží
- R 20/22 Zdraví škodlivý při vdechování a při požití
- R 20/21/22 Zdraví škodlivý při vdechování, styku s kůží a při požití
- R 21/22 Zdraví škodlivý při styku s kůží a při požití
- R 23/24 Jedovatý při vdechování a styku s kůží
- R 23/25 Jedovatý při vdechování a při požití
- R 23/24/25 Jedovatý při vdechování, styku s kůží a při požití
- R 24/25 Jedovatý při styku s kůží a při požití
- R 26/27 Velmi jedovatý při vdechování a při styku s kůží
- R 26/28 Velmi jedovatý při vdechování a při požití
- R 26/27/28 Velmi jedovatý při vdechování, styku s kůží a při požití
- R 27/28 Velmi jedovatý při styku s kůží a při požití
- R 36/37 Dráždí oči a dýchací orgány
- R 36/38 Dráždí oči a kůži
- R 36/37/38 Dráždí oči, dýchací orgány a kůži
- R 37/38 Dráždí dýchací orgány a kůži

- R 39/23 Jedovatý: nebezpečí velmi závažných trvalých následků při vdechování
- R 39/24 Jedovatý: nebezpečí velmi závažných trvalých následků při styku s kůží
- R 39/25 Jedovatý: nebezpečí velmi závažných trvalých následků při požití
- R 39/23/24 Jedovatý: nebezpečí velmi závažných trvalých následků při vdechování a při styku s kůží
- R 39/23/25 Jedovatý: nebezpečí velmi závažných trvalých následků při vdechování a při požití
- R 39/24/25 Jedovatý: nebezpečí velmi závažných trvalých následků při styku s kůží a při požití
- R 39/23/24/25 Jedovatý: nebezpečí velmi závažných trvalých následků při vdechování, styku s kůží a při požití
- R 39/26 Velmi jedovatý: nebezpečí velmi závažných trvalých následků při vdechování
- R 39/27 Velmi jedovatý: nebezpečí velmi závažných trvalých následků při styku s kůží
- R 39/28 Velmi jedovatý: nebezpečí velmi závažných trvalých následků při požití
- R 39/26/27 Velmi jedovatý: nebezpečí velmi závažných nevrátných účinků při vdechování a při styku s kůží
- R 39/26/28 Velmi jedovatý: nebezpečí velmi závažných trvalých následků při vdechování a při požití
- R 39/27/28 Velmi jedovatý: nebezpečí velmi závažných trvalých následků při styku s kůží a při požití
- R 39/26/27/28 Velmi jedovatý: nebezpečí velmi závažných trvalých následků při vdechování, styku s kůží a při požití
- R 40/20 Zdraví škodlivý: možné nebezpečí trvalých následků při vdechování
- R 40/21 Zdraví škodlivý: možné nebezpečí trvalých následků při styku s kůží
- R 40/22 Zdraví škodlivý: možné nebezpečí trvalých následků při požití
- R 40/20/21 Zdraví škodlivý: možné nebezpečí trvalých následků při vdechování a při styku s kůží
- R 40/20/22 Zdraví škodlivý: možné nebezpečí trvalých následků při vdechování a při požití
- R 40/21/22 Zdraví škodlivý: možné nebezpečí trvalých následků při styku s kůží a při požití
- R 40/20/21/22 Zdraví škodlivý: možné nebezpečí trvalých následků při vdechování, styku s kůží a při požití
- R 42/43 Senzibilizace při vdechování a styku s kůží možná
- R 48/20 Zdraví škodlivý: nebezpečí vážného poškození zdraví po dlouhodobé expozici vdechováním
- R 48/21 Zdraví škodlivý: nebezpečí vážného poškození zdraví při dlouhodobé expozici stykem s kůží
- R 48/22 Zdraví škodlivý: nebezpečí vážného poškození zdraví při dlouhodobé expozici požíváním
- R 48/20/21 Zdraví škodlivý: nebezpečí vážného poškození zdraví při dlouhodobé expozici vdechováním a stykem s kůží
- R 48/20/22 Zdraví škodlivý: nebezpečí vážného poškození zdraví při dlouhodobé expozici vdechováním a požíváním
- R 48/21/22 Zdraví škodlivý: nebezpečí vážného poškození zdraví při dlouhodobé expozici stykem s kůží a požíváním
- R 48/20/21/22 Zdraví škodlivý: nebezpečí vážného poškození zdraví při dlouhodobé expozici vdechováním, stykem s kůží a požíváním
- R 48/23 Jedovatý: nebezpečí vážného poškození zdraví při dlouhodobé expozici vdechováním
- R 48/24 Jedovatý: nebezpečí vážného poškození zdraví při dlouhodobé expozici stykem s kůží
- R 48/25 Jedovatý: nebezpečí vážného poškození zdraví při dlouhodobé expozici požíváním
- R 48/23/24 Jedovatý: nebezpečí vážného poškození zdraví při dlouhodobé expozici vdechováním a stykem s kůží
- R 48/23/25 Jedovatý: nebezpečí vážného poškození zdraví při dlouhodobé expozici vdechováním a požíváním
- R 48/24/25 Jedovatý: nebezpečí vážného poškození zdraví při dlouhodobé expozici stykem s kůží a požíváním
- R 48/23/24/25 Jedovatý: nebezpečí vážného poškození zdraví při dlouhodobé expozici vdechováním, stykem s kůží a požíváním
- R 50/53 Velmi jedovatý pro vodní organismy, může vyvolat dlouhodobé škodlivé účinky ve vodním prostředí

R 51/53 Jedovatý pro vodní organismy, může vyvolat dlouhodobé škodlivé účinky ve vodním prostředí

R 52/53 Škodlivý pro vodní organismy, může vyvolat dlouhodobé škodlivé účinky ve vodním prostředí

Kromě R-vět existují ještě tzv. S-věty (*Safety phrases, bezpečnostní věty*), které slouží k bezpečnému zacházení/nakládání s látkami s nebezpečnými vlastnostmi.

### **S-věty (standardní pokyny pro bezpečné zacházení)**

*(Vynechaná čísla S-vět byla v Evropské Unii zrušena)*

- S 1 Uchovávejte pod uzamčením
- S 2 Uchovávejte mimo dosah dětí
- S 3 Uchovávejte v chladnu
- S 4 Uchovávejte mimo obytné objekty
- S 5 Uchovávejte pod ....(příslušnou kapalinu specifikuje výrobce nebo dovozce)
- S 5.1 Uchovávejte pod vodou
- S 5.2 Uchovávejte pod petrolejem
- S 5.3 Uchovávejte pod parafinovým olejem
- S 6 Uchovávejte pod ....(inertní plyn specifikuje výrobce nebo dovozce)
- S 6.1 Uchovávejte pod dusíkem
- S 6.2 Uchovávejte pod argonem
- S 6.3 Uchovávejte pod oxidem uhličitým
- S 7 Uchovávejte nádobu těsně uzavřenou
- S 8 Uchovávejte nádobu v suchu
- S 9 Uchovávejte nádobu na dobře větraném místě
- S 12 Neuchovávejte nádobu těsně uzavřenou
- S 13 Uchovávejte odděleně od potravin, nápojů a krmiv
- S 14 Uchovávejte odděleně od ... (vzájemně se vylučující látky uvede výrobce nebo dovozce)
- S 15 Chraňte před teplem
- S 16 Uchovávejte mimo dosah zdrojů vznícení - Zákaz kouření
- S 17 Uchovávejte odděleně od hořavin
- S 18 Zacházejte s nádobou opatrně a opatrně ji otevírejte
- S 20 Nejezte a nepijte při práci
- S 21 Nekuřte při práci
- S 22 Nevdechujte prach
- S 23 Nevdechujte plyny/dýmy/páry/aerosoly (příslušný výraz specifikuje výrobce)
- S 24 Zamezte styku s kůží
- S 25 Zamezte styku s očima
- S 26 Při zasažení očí okamžitě důkladně vypláchněte vodou a vyhledejte lékařskou pomoc
- S 27 Okamžitě odložte veškeré kontaminované oblečení
- S 28 Při styku s kůží okamžitě omyjte velkým množstvím .... (příslušnou kapalinu specifikuje výrobce nebo dovozce)
- S 29 Nepřipusťte vniknutí do kanalizace
- S 30 K tomuto výrobku nikdy nepřidávejte vodu
- S 33 Provádějte preventivní opatření proti vzniku výbojů statické elektřiny
- S 35 Tento materiál a jeho obal musí být zneškodňovány bezpečným způsobem
- S 36 Používejte vhodný ochranný oděv

- S 37 Používejte vhodné ochranné rukavice
- S 38 V případě nedostatečného větrání používejte vhodné vybavení pro ochranu dýchadel
- S 39 Používejte osobní ochranné pracovní prostředky pro oči a obličej
- S 40 Podlahy a znečištěné předměty čistěte .... (vhodný čisticí prostředek specifikuje výrobce nebo dovozce)
- S 41 Nevdechujte zplodiny požáru nebo výbuchu
- S 42 Při fumigaci nebo rozprašování používejte vhodné vybavení k ochraně dýchadel (specifikaci ochrany uveďte výrobce nebo dovozce)
- S 43 V případě požáru použijte ...(druh hasiva uvede výrobce nebo dovozce. Zvyšuje-li riziko voda, připojí se "Nikdy nepoužívat vodu")
- S 45 V případě úrazu, nebo necítíte-li se dobře, okamžitě vyhledejte lékařskou pomoc (je-li možno, ukažte tuto etiketu)
- S 46 Při požití okamžitě vyhledejte lékařskou pomoc a ukažte tento obal nebo etiketu
- S 47 Uchovávejte při teplotě nepřesahující .... C (teplotu specifikuje výrobce nebo dovozce)
- S 48 Uchovávejte ve zvlhčeném stavu ....(vhodnou látku na zvlhčení specifikuje výrobce nebo dovozce)
- S 49 Uchovávejte pouze v původním obalu (nádobě)
- S 50 Nesměšujte s ....(specifikuje výrobce nebo dovozce)
- S 51 Používejte pouze v dobře větraných prostorách
- S 52 Nedoporučuje se pro použití v uzavřených místnostech na velké plochy
- S 53 Vyhněte se expozici - před použitím si obzvláště přečtěte speciální instrukce
- S 56 Tento materiál a jeho obal uložte na místo určené k ukládání zvláštních nebezpečných odpadů
- S 57 Použijte vhodnou nádobu k zamezení kontaminace životního prostředí
- S 59 Informujte se u výrobce nebo dodavatele o regeneraci nebo recyklaci
- S 60 Tento materiál a/nebo jeho obal musí být zneškodňován jako nebezpečný odpad
- S 61 Zabraňte uvolňování do životního prostředí. Vyžádejte si zvláštní pokyny/vycházejte z údajů, uvedených v Bezpečnostním listu
- S 62 Při požití nevyvolávejte zvracení. Okamžitě vyhledejte lékařskou pomoc a ukažte obal nebo tuto etiketu

### **KOMBINACE S-VĚT**

- S 1/2 Uchovávejte uzamčené a mimo dosah dětí
- S 3/7 Uchovávejte nádobu těsně uzavřenou na chladném místě
- S 3/9/14 Uchovávejte na chladném, dobře větraném místě odděleně od .... (vzájemně se vylučující látky uvede výrobce nebo dovozce)
- S 3/9/14/49 Uchovávejte pouze v původním obalu na chladném dobře větraném místě, odděleně od .... (vzájemně se vylučující látky uvede výrobce nebo dovozce)
- S 3/9/49 Uchovávejte pouze v původním obalu na chladném, dobře větraném místě
- S 3/14 Uchovávejte na chladném místě, odděleně od ....(vzájemně se vylučující látky uvede výrobce nebo dovozce)
- S 7/8 Uchovávejte nádobu suchou a těsně uzavřenou
- S 7/9 Uchovávejte nádobu těsně uzavřenou, na dobře větraném místě
- S 7/47 Uchovávejte nádobu těsně uzavřenou a při teplotě nepřesahující .... C (teplotu specifikuje výrobce nebo dovozce)
- S 20/21 Nejezte, nepijte a nekuřte při práci
- S 24/25 Zamezte styku s kůží a očima
- S 29/56 Nepřipusťte vniknutí do kanalizace, tento materiál a jeho obal uložte na místo určené k ukládání zvláštních nebezpečných odpadů
- S 36/37 Používejte vhodný ochranný oděv a ochranné rukavice S 36/37/39 Používejte vhodný ochranný oděv,

ochranné rukavice a ochranné brýle nebo obličejový štít

S 36/39 Používejte vhodný ochranný oděv a ochranné brýle nebo obličejový štít

S 37/39 Používejte vhodné ochranné rukavice a ochranné brýle nebo obličejový štít

S 47/49 Uchovávejte pouze v původním balení při teplotě nepřesahující .... C (teplotu specifikuje výrobce nebo dovozce)

## **Slovní vyjádření R-vět a S-vět nelze měnit!**

### **Označení látek karcinogenních, mutagenních a toxických pro reprodukci**

Látkám karcinogenním, mutagenním a toxickým pro reprodukci kategorie 1 a 2 se přiřazuje grafický symbol nebezpečnosti se slovním vyjádřením „toxický“ a příslušné R-věty:

Krcg.: R-45 Může vyvolat rakovinu resp. R-49 Může vyvolat rakovinu při vdechování

Mutag.: R-46 Může vyvolat poškození dědičných vlastností

Repro.: R-60 Může poškodit reprodukční schopnosti resp. R-61 Může poškodit plod v těle matky

Uvedeným látkám kategorie 3 se přiřazuje grafický symbol nebezpečnosti se slovním vyjádřením „zdraví škodlivý“ a příslušné R-věty:

Krcg. a mutag.: R-40 Možné nebezpečí nevratných účinků

Repro.: R-62 Možné nebezpečí poškození reprodukčních sc

**OBSAH:**

Toxikologie.....	1
Jedy .....	2
Vniknutí jedu.....	2
Způsob účinku jedu.....	2
Důvody toxikologických vyšetření a kdo je provádí .....	4
Toxikologická analýza .....	5
Materiál k analýze .....	5
Metody a přístrojové vybavení užívané v toxikologické analýze.....	5
Chromatografické systémy .....	5
Spektrální analýza .....	6
Imunochemické metody .....	6
Ostatní metody.....	7
„Klasická toxikologická analýza“ .....	7
Systematické toxikologické vyšetření.....	7
Vyhledávání léčiv – barevné tečkovací reakce podle Večerkové.....	8
Příklady stanovení jednotlivých léčiv.....	10
Barbiturany .....	10
Salicylany .....	11
Fenacetin .....	12
Alkaloidy.....	12
Fenothiaziny .....	12
Stanovení etanolu .....	13
Stanovení metanolu .....	14
Chlorderiváty uhlovodíků.....	15
Organofosfáty .....	15
Oxid uhelnatý.....	16
Poznámka k metodologii v toxikologické analýze.....	18
Toxikomanie a drogy.....	19
Dodatek o zákonech a vyhláškách souvisejících s probíranou tematikou .....	22