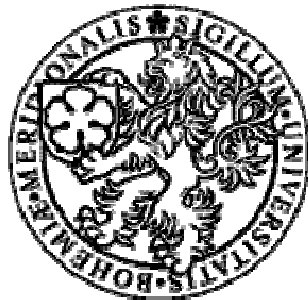


Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zdravotně sociální fakulta



Drogový záchyt
(Diplomová práce)

Vypracovala: Jana Študlarová

Vedoucí práce: MUDr. František Vorel, CSc.

7.5.2009

Abstrakt

Diplomová práce se zabývá drogovou problematikou z toxikologického hlediska. V teoretické části je shrnuta historie, stručný přehled a charakteristika jednotlivých skupin drog, dále je v teoretické části popsáno působení nox (drog) v organismu a možnosti jejich stanovení jednotlivými analytickými metodami.

V problematice abúzu drog je jako první metodou proveden imunochemický screening (záchyt). Imunochemické screeningové metody slouží k vytřídění negativních a pozitivních vzorků drog, neumožňují nám přesně identifikovat vzorek. Jedná se o metody nespecifické a je nutné tuto pozitivitu či negativitu záchyty potvrdit či vyvrátit dalšími analytickými metodami. Této problematice je věnována praktická část, ve které se zabývám jednotlivými toxikologickými metodami, prováděnými v Laboratoři klinické chemie (toxikologické laboratoři) Nemocnice České Budějovice, a.s. za rok 2007. Cílem práce je srovnání výsledků jednotlivých vyšetření a zda jednotlivé záchyty prokázali či vyvrátili požití drogy.

Abstract

The Diploma Work deals with the problem of addictive drugs in toxicological terms. History, a brief overview and characteristics of individual groups of addictive drugs are summarised in the theoretical part. There is further described the effect of noxa (addictive drugs) in organism and possibilities of their identification using individual analytical methods.

In the area of addictive drugs abusing the immunochemical screening (interception) is carried out as the first method. The immunochemical screening methods serve for assortment of negative and positive samples of addictive drugs, they do not enable us to accurately identify the sample. They are non-specific methods and it is necessary to prove or disprove this positive or negative interception applying other analytical methods. The practical part is devoted to this area, in which I deal with individual toxicological methods performed in the Laboratory of Clinical Chemistry (toxicological laboratory) of Nemocnice České Budějovice, a.s. in 2007. The target of the work is a comparison of results of individual investigations and whether individual interceptions proved or disproved ingestion of an addictive drug.

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma „Drogový záchyt“ vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. V platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě/v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Zdravotně sociální fakultou elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

V Českých Budějovicích 7. 5. 2009

Jana Študlarová

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucímu práce panu primáři MUDr. Františku Vorlovi, CSc. za podklady nutné k vypracování práce. Další poděkování za trpělivost a odbornou pomoc při vypracování práce patří paní Ing. Marii Dědičové a panu Ing. Josefu Gottwaldovi, bez jejichž pomoci by bylo těžké téma zpracovat. V neposlední řadě děkuji za trpělivost své rodině a blízkým, bez jejichž morální podpory bych se neobešla.

Obsah:

ÚVOD	7
HISTORIE.....	8
HISTORIE ILEGÁLNÍCH DROG	9
1 SOUČASNÝ STAV	13
1.1 ROZDĚLENÍ DROG.....	14
1.1.1 <i>Halucinogeny, psychedelika</i>	14
1.1.2 <i>Stimulancia</i>	18
1.1.3 <i>Tlumivé látky</i>	21
1.2 TERMINOLOGIE UŽÍVANÁ WHO U ZÁVISLOSTÍ A TOXIKOLOGICKÁ TERMINOLOGIE:	23
1.3 JED, INTOXIKACE, TOXICITA.....	24
1.4 FARMAKOKINETIKA, METABOLISMUS.....	28
1.4.1 <i>Absorpce</i>	29
1.4.2 <i>Distribuce</i>	30
1.4.3 <i>Eliminace</i>	31
1.4.4 <i>Akumulace nox</i>	34
1.5 BIOTRANSFORMACE	34
1.6 VLIV NOXY NA BUŇKU.....	37
1.6.1 <i>Vazba látky</i>	39
1.7 FORENZNÍ TOXIKOLOGIE.....	40
1.8 TOXIKOLOGICKÁ VYŠETŘENÍ	41
1.9 LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA.....	43
1.9.1 <i>Základní informace, výběr vzorků</i>	43
1.9.2 <i>Správná příprava vzorku</i>	45
1.9.3 <i>Přehled toxikologických metod</i>	48
1.10 TOXIKOLOGICKÁ ANALÝZA VZORKU BIOLOGICKÉHO MATERIÁLU NA PŘÍTOMNOST DROG	57
1.11 POCT TECHNIKY.....	60
1.12 VLASOVÁ ANALÝZA	62
1.13 SCREENINGOVÉ METODY U JEDNOTLIVÝCH DROG	63
1.14 VLIV DROG NA SCHOPNOST ŘÍDIT MOTOROVÉ VOZIDLO	67
2 CÍLE PRÁCE A HYPOTÉZY	70
2.1 CÍLE PRÁCE.....	70
2.2 HYPOTÉZA	70
3 METODIKA	71
4 VÝSLEDKY	72
5 DISKUZE	79
6 ZÁVĚR	85
7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	86
8 KLÍČOVÁ SLOVA A POUŽITÉ ZKRATKY	89

Úvod

Málokterá oblast lidského konání se může pochlubit takovou záplavou mýtů, polopravd a mystifikací jako vše, co se přímo či nepřímo dotýká drogové problematiky.

Tématika drog byla, je a bude stále celospolečenským problémem, týká se všech lidských ras a všech společenských vrstev. Má své hluboké historické, sociální a geopolitické kořeny. Bez drog si jen obtížně umíme představit dnešní život. S drogami se běžně setkáváme v lékařství, chemickém, potravinářském průmyslu apod.

Vybrané téma jsem si zvolila proto, abych poukázala na obrovskou roli toxikologických laboratoří, z jejichž stanovení se odvíjí nejen další postup kriminalistů a zdravotníků, ale jsou nepostradatelné i v dalších oborech. Ráda bych přiblížila jednotlivé metody drogového záchytu.

Historie

Již od počátku historie lidské společnosti jsou zaznamenávány snahy lidí nacházet látky, které by zmírňovali bolest, léčili různé choroby, a které by po požití vyvolávali pocity štěstí a blaha. Omamné látky tedy provázejí člověka celým jeho vývojem k jeho pomoci i záhubě a jejich užívání vyvolává závislost, která působí škody nejen uživatelům, ale i celé společnosti.

Historicky starší zkušenosti má člověk s tzv.*psychedelickými drogami*, jejichž užívání bylo obvykle ritualizováno po celá staletí. Historicky mladší zkušenost má člověk s *návykovými látkami*, které bývají zneužívány příležitostným, konzumním způsobem a přinášejí člověku utrpení v závislosti na těchto látkách.

Psychedelické látky (z řeckého *psyche a delein* = učiniti zjevným) jsou používány k léčení, věštění, ke komunikaci s nebeskými i podsvětními oblastmi, v šamanských rituálech apod. Obyčejně navozují intenzivní prožitky, které mohou mít hluboký transformativní charakter. Historicky tyto substance používali šamani již v době paleolitu. V historii je popisováno užívání psychedelických látek již před 3500 lety a o konopí jsou první zmínky zaznamenány v lékopise čínského císaře Shen- Nunga již před 5000 lety.

Nejvýznamnější návykové látky jsou obsaženy v máku, obsahují opium, jehož obsahovými látkami jsou morfin a kodein a z opia se vyrábí heroin. Tyto návykové látky pocházejí zejména z Balkánských zemí, ze zemí Blízkého východu, Středního východu, z Dálného východu, Mexika, Kolumbie a z tzv.zlatého trojúhelníku- Barma, Laos, Thajsko.První doklady o pěstování máku pro jeho narkotické účinky jsou staré 6000 let z říše Sumerů.

Ve starém Řecku lékaři využívali omamných účinků drogy k léčení (3.-4.stol. př. n. l.).Významný středověký lékař Paracelsus používal ke svému léčení tinktury, které obsahovali opiáty a nazýval je Lajdaným a Arkanum., v Číně sloužilo opium k potlačení hladu v dobách hladomoru a katastrof a dokonce zde byla kvůli opiu v letech 1839-1842 vedena válka. V 19.století se opium rozšířilo do Evropy. Po první světové válce se rozšířil zejména heroin a zatlačil do pozadí kokain a morfin a ve válečné chirurgii byl dokonce metadon používán jako anestetikum.

Španělští kolonizátoři zakázali domorodé kultury a pod hrozbou trestu zakázali pěstování a žvýkání koky, což vedlo ke zneužívání drogy, kdy se žvýkání koky vymklo rituálnímu poslání a nakonec sloužilo nejchudším obyvatelům k potlačení hladu. Chemicky izolován byl kokain poprvé v roce 1860.

Amfetamin byl poprvé syntetizován v roce 1887. Byly pak zkoumány jeho budivé účinky a terapeuticky byl používán k léčbě encefalidity. Amfetaminy se zneužívaly také ve vrcholovém sportu a za 2.světové války sloužili k dopování bojových letců. Další budivý amin efedrin je znám nejméně 5000 let, v čínské medicíně byl používán jako antiastmatikum. Velký význam amfetaminů můžeme pozorovat také u nás, v 80. letech je efedrin zneužíván pro výrobu pervitinu (metamfetamin).

Roku 1898 byl synteticky vyroben heroin (diacetylmorfin), který byl z počátku dokonce propagován jako lék při potírání morfiové závislosti.

Historie ilegálních drog

U *halucinogenů* prokázal moderní kulturně-antropologický výzkum přírodních národů, že rituální užívání halucinogenních drog je velmi rozšířené a úzce spojené s vývojem lidské kultury. V kombinaci s archeologickými nálezy a nejstaršími písemnými záznamy je pak zcela nevyvratitelné, že užívání halucinogenních drog tvořilo významnou součást různých rituálních obřadů a pravděpodobně se toto užívání významně podílelo na objevení některých charakteristických uměleckých prvků, zachycených na nástěnných malbách, plastikách a dalších výtvorech z období paleolitu a neolitu. Archeologické nálezy například v Guatemale potvrzují, že halucinogenní houby byly v tomto prostředí rituálně užívány již déle než tři tisíce let.

Pro část šamanských kultur byla halucinogenní droga základním prostředkem pro cestu do změněných stavů vědomí. Mezi technikami schopnými vyvolat extatický stav představují halucinogenní látky jeden z nejstarších původních šamanských přístupů vedle například potních chýší, hladovek, rytmických pohybů a zvuků (šamanských bubnů) apod.

U *konopných drog* je naprosto nejstarším známým písemným dokladem o užívání konopí farmakologické pojednání připisované legendárnímu čínskému císaři Šen-nungovi a datované někdy do období 2 737 let př.Kr. Ačkoli samotnému zkoumání bylo

podrobeno až dílo z prvního století po Kr. vzniklé za dynastie Han. Podobně je tomu s nejstarší dochovanou čínskou knihou „Knihou písní“ v níž je o konopí také zmíněno a která se navíc odvolává na prameny až o 2000 let starší, než je sama.

Jak prokázal moderní kulturně-antropologický výzkum přírodních národů, je rituální užívání *halucinogenních drog* velmi rozšířené a úzce spojené s vývojem lidské kultury. V kombinaci s archeologickými nálezy a nejstaršími písemnými záznamy je pak zcela nevyvratitelné, že užívání halucinogenních drog tvořilo významnou součást různých rituálních obřadů a pravděpodobně se významně podílelo se na objevení některých charakteristických uměleckých prvků zachycených na nástěnných malbách, plastikách a dalších výtvorech z období paleolitu a neolitu. Archeologické nálezy například v Guatemale potvrzují, že halucinogenní houby byly v tomto prostředí rituálně užívány již déle než tři tisíce let. Známé malby v jeskyni Tří kouzelníků ve Francii či množství archeologických nálezů z jiných významných evropských nalezišť přinášejí důkazy o užívání psychoaktivních látek paleolitickou, mezolitickou a neolitickou společností. Kromě jiného existuje také vědecká teorie o tom, že část nalezených plastik tzv. venuší byla užívána při různých obřadech, jejichž součástí bylo též užívání halucinogenní látky, a že i výroba těchto sošek byla u části z nich spojena přímo či nepřímo s prožitky intoxikace.

Vlastnosti *makové šťávy* byly známy již v době mezolitu (8 000 - 5 000 př. n. l.). Podle tureckých zdrojů je kolébkou máku země dvou řek - Mezopotámie. Sumeřané vsutku opium znali a užívali pro něj ideogram „hul,“ jenž je překládán jako „radost“ či „veselí.“ Užití opia dále zřejmě rozšířili asijské nomádské obchodníci ze Sýrie. Podle ústního podání se mák jako prostředek k utišení bolesti užíval již v 7. století. Jeho omamné účinky byly zřejmě známy i prvním egyptským lékařům. Arabové převzali opium od Egyptanů a dovezli ho do Indie, kde byl o století později, r. 1526, v době panství islámské říše, vybudován 1. státní opiový monopol. Ve středomoří bylo opium známo jako prostředek k utišení bolesti již v době antiky. Ve starém Řecku nařezávali makovice za účelem získání opia. Rozlišovali mezi vytlačenou šťávou z plodů nebo z celé rostliny zvanou meconium a mléčnou šťávou makovic zvanou opos (od ní pak byl odvozen název opium). Ve starořeckých pověstech byly makovice zasvěceny bohu

spánku Morfeovi. Na počátku 18. století se zhoubný návyk kouření opia začíná šířit v Číně. Bylo tehdy vydáno několik zákazů kouřit. Roku 1839 dala čínská vláda hodit do moře 1 227 000 kg opia dovezeného z Indie a zakázala další obchod s Anglií. V důsledku toho začala r. 1839 tzv. opiová válka. Díky Antiopiovému ediktu byla maková kultura do r. 1917 potlačena, ale následné nepokoje v zemi umožnily její opětovný rozkvět. Hnutí proti opiu v Anglii a USA vedlo r. 1909 k 1. mezinárodní opiové konvenci v Šanghaji. Tato konvence doporučila i ostatním vládám, aby následovaly Čínu v boji proti opiu. Dne 23. 1. 1912 podepsalo 12 států v Haagu mezinárodní opiovou úmluvu. Následně bylo opium, s výjimkou medicínského použití, mezinárodně kontrolováno a drogovými (dříve opiovými) zákony v mnoha zemích zakázáno. 19. 2. 1925 proběhla 2. mezinárodní opiová úmluva v Ženevě s účastí 34 států, která ustanovení z 1. konference ještě rozšířila. Poslední významnější úmluvou je Jednotná úmluva o omamných látkách z New Yorku 1961.

Užívání *stimulačních drog* je také známo mnoho let. Žvýkání listů koky, hlavního hojně užívaného přírodního stimulantia, je doloženo již 3000 let př. n. l. Obyvatelé And je dodnes stejně jako jejich dávní předci drtí, mísí s popelem, který hraje úlohu zásaditého činidla, a vkládají si je k dásním. Z přelomu prvního a druhého tisíciletí je doloženo pěstování koky jako kulturní rostliny, ze 14. století pak plánovitě zakládání a obhospodařování kokových plantáží Inky. První zprávy o koce do Evropy dorazily v šestnáctém století: španělští conquistadoři si při dobývání Incké říše povšimli, jak dobře jejich nepřátelé snášejí tělesné vypětí a hlad; správně odvodili, že se tak děje díky žvýkání „na pohled obyčejného zeleného listí.“ V roce 1855 izoloval lékárník F. Gaedck z koky kokain, nenašel pro něj ale využití, a tak jej v roce 1860 bez znalosti Gaedckovy práce znovu objevil Albert Niemann. V roce 1862 vyrobila farmaceutická firma E. Merck v německém Darmstadtu několik liber kokainu, v té době se kokain etabloval jako lék proti kašli a anestetikum, zakladatel psychoanalýzy Sigmund Freud jej užíval jako antidepresivum a doporučoval v odborném pojednání za tímto účelem a k odvyknutí od morfinu. Obecně se má za to, že stimulantia sehrála za obou světových válek – kokain v první a amfetamin (benzedrin) a metamfetamin (pervitin) ve druhé – nezanedbatelnou úlohu. Amfetamin byl poprvé syntetizován v roce 1887 z efedrinu,

získaného z chvojníku (*Ephedria vulgaris*). Rok po něm byl v Japonsku syntetizován i metamfetamin (pervitin). Účinky obou drog byly prozkoumány až na počátku 20. století.

Historie tzv. *tanečních drog* je poměrně mladá. MDMA (Ecstasy, extáze) byla jako účinná látka syntetizována, resp. patentována v roce 1912 firmou Merck jako lék na hubnutí. Nikdy však nebyla komerčně vyráběna a používána v této indikaci. Moderní historie MDMA je spojena se jménem Alexandra Shulgina, který látku resyntetizoval v 50. letech. V následujících letech proběhly pokusy o její využití v psychoterapii. Výsledky terapeutické práce byly terapeuty hodnoceny vesměs pozitivně, zvláště pozitivně byla hodnocena schopnost introspekce a zlepšení schopnosti komunikace mezi lidmi, se vzájemným silným citovým vztahem. Mezi indikační skupiny patřila posttraumatická stresová porucha (v této indikaci se nyní experimentálně zkouší), partnerská terapie a péče o smrtelně nemocné. MDMA se experimentálně používala také jako prostředek, který posiloval terapeutický účinek dynamické psychoterapie a prohluboval vztah pacient - terapeut. Na druhé straně existovaly pochybnosti o trvalosti dosažených změn. Poté, co byla prokázána neurotoxicita MDMA, bylo její další legální používání většinou zakázáno. Přesto existují dodnes amatérští terapeuti, kteří ji k terapii nadále používají.

1 Současný stav

V oblasti drogové problematiky stále panuje terminologický chaos a setkáváme se tedy s různými definicemi drog. Termín „droga“ má mnoho významů. V Úmluvách OSN a v „Deklaraci snižování poptávky po drogách“ označuje látky podřízené mezinárodní kontrole. V medicíně odkazuje na některá léčiva užívaná pro předejití nebo vyléčení nemoci nebo pro zvýšení fyzické či psychické kondice. Ve farmakologii se termín vztahuje na některé chemické činitele, které upravují biochemické nebo fyziologické procesy ve tkáni nebo organismu. Často se pojmem „droga“ rozumí psychoaktivní látka a ještě častěji jde o synonymum pro drogy nezákonné. Kofein, tabák, alkohol a další látky, které jsou běžně užívány bez lékařského předpisu, jsou v jistém slova smyslu také drogy, protože jsou užívány primárně pro svůj psychoaktivní efekt.

Drogou je v obecném smyslu myšlena jakákoli syntetická či přírodní látka, která v lidském organismu vyvolá změnu jeho činností. V užším smyslu je to látka, která se užívá, lépe řečeno zneužívá ke změně duševního stavu, tzn. nálady, prožívání stavu bdělosti či útlumu, k fyzickému či psychickému „oživení“ a zásadní změny chování. Tyto změny jsou způsobeny působením drog na centrální nervovou soustavu, jejíž činnost a výkonnost se projevuje kvalitou duševní činnosti. Ve spisovné češtině má toto slovo význam „omamující, uklidňující, dráždivý přípravek“ (např. uklidňující, jedovatá, ostrá, povzbuzující droga nebo působit jako droga). Přesnou definici drogy podala v roce 1969 komise znalců Světové zdravotnické organizace (WHO) a publikovala ji v této podobě: *“Droga, jakákoliv látka (substance), která je-li vpravena do živého organismu, může pozměnit jednu nebo více jeho životních funkcí.”*

Mnoho drog se používá nebo dříve používalo jako léčiva nebo se jedná o látky z léčiv odvozené. Drogy jejichž výroba, distribuce a šíření nespadá do oblasti medicíny, jsou nezákonné a podle mezinárodních úmluv a národních legislativ, se označují pojmem „ilegální“. Mezi ně nepatří alkohol, tabák, některé léky a těkavé látky, které jsou naopak legálně dostupné a rozšířené. Z právního hlediska drogy považujeme za omamné psychotropní látky uvedené v přílohách zákona č. 167/1998 Sb., o návykových látkách. Tento zákon byl naposledy novelizován v roce 2004 zákonem 466/2004 Sb

1.1 Rozdělení drog

Drogy lze dělit podle mnoha hledisek:

- a) podle původu (drogy přirozeného původu, polysyntetické a syntetické drogy)
- b) podle působení na CNS (tlumící CNS, stimující CNS, halucinogeny a drogy ovlivňující vnímání)
- c) rozdělení drog podle rizika vzniku závislosti na nich:

1. *Drogy měkké* (drogy s akceptovatelným rizikem), mezi které zařazujeme např. kávu, tabákové výrobky, produkty konopí a droga číslo jedna v naší společnosti - alkohol. U alkoholu je již ale hranice sporná. Podle negativního účinku nadměrného užívání alkoholu na tělesné a duševní zdraví alkohol patří kamsi na rozhraní měkkých a tvrdých drog.

2. *Drogy tvrdé* (drogy s neakceptovatelným rizikem), kam patří např. heroin, kokain, crack a pervitin. U těchto druhů omamných drog je riziko vzniku závislosti jednoznačně vysoké.

- d) jiné možnosti rozdělení

Pro naše potřeby si drogy můžeme rozdělit podle převládajících účinků:

1.1.1 Halucinogeny, psychedelika

Halucinogeny, nebo psychedelika mohou vyvolat asi nejvýraznější změnu vnímání reality. Velmi záleží na okolnostech užití. V přátelském prostředí a v dobrém duševním stavu bývá intoxikace velmi příjemná, pokud je droga užitá za nevhodných okolností, přichází děsivá noční můra, která může vést k trvalému duševnímu poškození.

Kanabinoidy

Kanabinoidy jsou účinné látky konopí setého (*Cannabis sativa*), respektive jeho indické odrůdy (*Cannabis indica*), obě patřící do čeledi Cannabaceae. Konopí je jednoletá dvoupohlavní rostlina. Z kanabinoidů má největší význam psychotropně působící Δ -9-tetrahydrokanabinol (THC). Účinek THC závisí na způsobu, množství a frekvenci užívání a také na psychických dispozicích uživatele. Je-li marihuana kouřena,

účinkuje daleko rychleji než v případě polykání. Zneužívány jsou tři produkty konopí: marihuana, hašiš a hašišový olej.

Marihuana jsou sušené listy a květenství samičích rostlin konopí zpravidla obsahující 4 – 6 % THC. Nejčastější způsob aplikace je inhalační, tj. kouřením (samostatně či ve směsi s tabákem).

Hašiš je usušená pryskyřice z květů a listů horní části rostliny. Obsah THC je mnohem větší než u marihuany, 20 % THC.

Hašišový olej je hustá tmavohnědá až černá, lepkavá hmota, jedná se o extrakt hašišu organickými rozpouštědly obsahující až 60 % THC.

„*Skank*“ je druh marihuany s vysokým obsahem THC, jeho účinek je okamžitý, silný a rychlý.



obr.1 Cannabis sativa

Meskalin je účinnou látkou kaktusů rostoucích na americkém kontinentu. Nejznámější se nazývá peyotl (*Lophophora Williamsii*). Sušené kaktusy se obvykle extrahují a získaný průhledný olej se přidává do nápojů.

Psilocybin je účinnou látkou houby lysohlávky (*Psilocybe lanceata*). Houba se konzumuje čerstvá či sušená požvýkáním a spolknutím. Průměrná účinná dávka psilocybinu pro dospělého člověka je asi mg, což odpovídá přibližně 1 g sušené houby.



obr. 2 Psilocybe lanceata

LSD (dietylamid kyseliny lysergové)

LSD je droga připravená z kyseliny lysergové, účinné látky námele (*Claviceps purpurea*). Laboratorně je LSD syntetizováno ve formě prášku. Je užíváno ve formě tablet a tenkých čtverečků želatiny, nebo zředěno a absorbováno do absorpčních papírků. Tyto papírky, tzv. *tripy* jsou označovány různými obrázky a názvy. LSD patří mezi silné psychoaktivní preparáty, obvyklé perorální dávky činí 100 – 250 µg, účinek však mají i dávky podstatně nižší. Účinek po perorální aplikaci nastupuje za 15 – 20 minut a trvá 8 – 12 hodin.. Příznaky akutního působení jsou rozšířené zornice, zvýšená tepová frekvence a zvýšený krevní tlak, pocení, třes, poruchy vnímání, zejména halucinace (akustické i vizuální), dochází ke změněnému vnímání reality, změnám nálady, pomatenosti, dezorientaci. Velkým rizikem bývá zvýšená možnost sebevražedného chování či dlouhodobé nepříznivé účinky na psychiku.



obr.3 *Claviceps purpurea*

Rostliny s čeledi lilkovitých

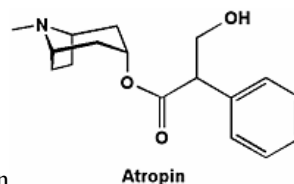
Objevují se případy intoxikací po užití rostlin z čeledi lilkovitých, jedná se se především o Rulík zlomocný (*Atropa belladonna*), Blín černý (*Hyoscyamus niger*) a Durman obecný (*Datura stramonium*). Tyto rostliny obsahují, mimo jiné, alkaloidy atropin a skopolamin, ovlivňující duševní činnost.

Atropin

Atropin blokuje nervový systém, otrava se projevuje suchostí v ústech, zčervenáním kůže, rozšířením zornic, poruchou zraku, bušením srdce, poruchou močení a zácpou, zvýšením teploty, těžších případech i poruchami nervové činnosti velkou vzrušivostí, sklonem k mnohmluvnosti, touhou po tělesné činnosti (např. častou změnou polohy), nemotivovaným smíchem. Při vyšších dávkách se objevují zrakové, čichové a sluchové halucinace.

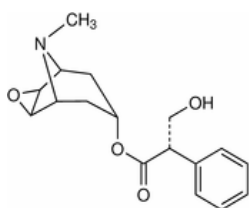


obr.4, 5 *Atropa belladonna*, atropin



Skopolamin

Skopolamin je mnohonásobně jedovatější než atropin, ale projevy intoxikace jsou podobné jako u atropinu. Zrychlení tepu nebývá však tak značné, chybí zarudnutí kůže a zvýšení teploty.



obr.6 Skopolamin

1.1.2 Stimulancia

Stimulační látky zvyšují aktivitu duševní i tělesnou. Menší a středně silné dávky vyvolávají pocity síly a energie, intoxikovaný je na první pohled plný energie, neposedí, často je hovorný.

Vysoké dávky mohou navodit halucinace a ztrátu kontaktu s realitou (tzv. toxická psychosa), mohou vést také k srdečnímu selhání nebo jiným tělesným komplikacím.

Kokain

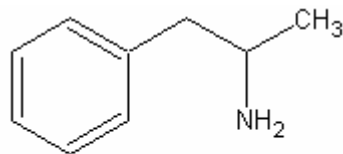
Kokain je účinnou látkou listů keře koka (*Erythoxylon coca*). Zneužívány jsou dvě formy: kokain hydrochlorid a báze kokainu, známá jako „crack“. Hydrochlorid kokain je nejčastěji aplikován nasálně (šňupáním) nebo intravenózně, báze kokainu inhalačně (kouřením). Obvyklá účinná dávka činí 30 - 200 mg, minimální smrtelná dávka 1,2 g. /činek po nazální aplikaci nastává do 10 minut, při intravenózní či inhalační aplikaci v několika sekundách. Doba trvání účinku se pohybuje v rozmezí 10 – 30 minut. Příznaky akutního působení jsou rozšířené zornice, zvýšení frekvence pulzu a tlaku krve, euforie, hyperaktivita, neklid, nespavost. Při chronickém působení dochází ke změnám osobnosti, halucinacím, podrážděnosti, stihomamu a agresivitě. Na kokain vzniká psychická závislost.



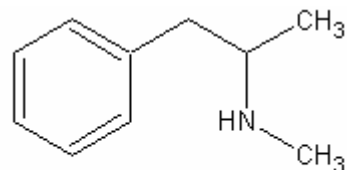
obr. 7 *Erythoxylon coca*

Amfetaminy

Souhrnným názvem „amfetaminy“ se označuje skupina plně syntatických látek se silným psychostimulačním účinkem. Název je odvozen od chemického označení jejich hlavního představitele, kterým je **alfa – metyl – fenetyl – amin** (chemicky 2 – amino- 1 - fenylypropany).



Amphetamin



Methamphetamin

Amfetamin je ve vodě dobře rozpustný bílý až nažloutlý krystalický prášek, nejčastěji se užívá ve formě síranu. Nejčastější aplikační formou je intravenózní aplikace. Na látkách amfetaminového typu se rychle vyvíjí psychická závislost a tolerance a přetrvává díky silné touze dosáhnout maximální euforie a vzrušení. K dosažení požadovaného účinku musí být množství zneužívané látky zvyšováno. Obvyklá účinná dávka činí 5 – 50 mg, minimální smrtelná dávka je 200 mg.

Toxický syndrom, který amfetaminy vyvolávají, je charakterizován hlubokými změnami v chování, vizuálními, sluchovými a hmatovými halucinacemi. Ty mohou být spojeny s pocity paniky, agrese a nutkáním ke zvláštnímu – nenormálnímu chování. Postupně dochází k prohlubování poruchy a příznaky se zvyrazňují. Toxikoman je ve stálém pocitu ohrožení, což vede k nenormálnímu jednání, panickým útěkům a zdánlivě sebeobraným útokům. Velmi nápadným znaky jsou široké nereagující zorničky, třes a stavy zmatenosti.

Metamfetamin (derivát amfetaminu, známý též pod názvem *Pervitin*) je typicky „česká droga“, toxikomany jeden z nejmasověji zneužívaných preparátů a to pro jeho jednoduchou přípravu z relativně dostupných surovin. Jako vstupní produkt pro výrobu pervitinu slouží stimulační látka efedrin nebo pseudoefedrin, který lze získat z různých kompozitních léků (Modafen , Nurofen stopgrip, Paralen plus) nebo z chvojníku (*Ephedra vulgaris*). Po extrakci lze efedrin za pomoci louhu, červeného fosforu a dalších chemikálií změnit na metamfetamin. Prvotní psychotropní efekt pervitinu je příjemný a výrazný, a proto vysoce žádaný. Podobně jako u ostatních amfetaminů dochází k celkovému povzbuzení, odstranění únavy, pocitu zlepšené psychické a fyzické

výkonnosti, euforizaci, zvýšené empatii¹, uvolnění zábran. Prakticky u každého konzumenta pervitinu dochází k zásadním změnám psychiky, toxikomany označovanými jako „stihy“. Pervitin je nejčastěji aplikován intravenózně po rozpuštění dávky ve vodě, v poslední době je rozšířeno i šňupání. Může však být užíván i orálně, eventuelně intramuskulárně.

Extáze (metoxyderivát metamfetaminu) je syntetický produkt derivovaný z amfetaminu, který vyvolává zvýšenou citlivost a vnímavost a dochází u ní ke spojení psychostimulačních a halucinogenních účinků. Většinou se označuje zkratkami chemických názvů, mezi nejrozšířenější patří: **MDMA** (= 3,4 - **metylendioxymetamfetamin**), **MDEA** (= 3,4, - **metylendioxyetylamfetamin**). Tyto drogy jsou nejčastěji distribuovány formou tablet různých barev a s rozličnými vlisy produkovaných ilegálními laboratořemi. Obsah účinných látek v tabletách se pohybuje mezi 50 – 200 mg (obvyklá jednotlivá dávka), jako minimální smrtelná dávka se uvádí 0,5 g. Počátek působení nastává zhruba za 30 minut po požití, účinek trvá 4 – 6 hodin.i více.



obr.8 tvary a vlisy u MDMA

Účinky MDMA jsou dost nepředvídatelné. Dávka kterou jeden uživatel toleruje, může u jiného člověka vyvolávat otravu. K předávkování může dojít jak po požití jedné dávky, tak po opakovaném zneužívání. Velmi nebezpečná je kombinace MDMA s alkoholem a kofeinem.

¹ Empatie neboli vcítění označuje porozumění emocím a motivům druhého člověka.

1.1.3 Tlumivé látky

Tyto látky vyvolávají útlum nervového systému. Menší a středně silné dávky navozují pocit euforie a často mizí nepříjemné emoce jako je strach a pocit psychického napětí. Pokud je dávka příliš vysoká, může dojít k potlačení aktivity dechového centra a k zástavě dýchání.

Nejznámějšími zástupci této skupiny jsou látky odvozené od morfia, tj. opioidy (morfium je hlavní alkaloid opia – zaschlé šťávy z nezralých makovic). Mají silný analgetický a euforizující účinek. Do skupiny opioidů patří heroin, metadon, kodein, buprenorfin (Subutex®).

Opiáty

Zdrojem opiátů je zaschlá šťáva, získaná nařezáním nezralých makovic druhu mák setý (*Papaver somniferum*) zvaná opium. Zaschlá mléčná šťáva z makovic na vzduchu tuhne a hnědne a v tomto stavu je sbírána k přímé konzumaci nebo zpracovávána k dalšímu použití.

Opium je nejčastěji kouřeno ve zvláštních dýmkách, při kouření část morfinu přechází do kouře a je vdechován, část se spaluje. Účinky se dostávají pozvolna, dochází k euforii, pocitu sladké únavy, nezřídka se objevují halucinace.

V medicíně jsou opiáty tradičně používány pro tlumení silných bolestí a tišení kašle. Až 25 % opia tvoří alkaloidy, z nichž nejvýznamnější v oblasti toxikománie je morfin, sloužící jako výchozí surovina pro výrobu heroinu. Morfin je nejčastěji aplikován intravenózně v dávce 5 – 20 mg, minimální smrtelná dávka je 200mg. Účinky po aplikaci nastupují obvykle velmi rychle, což vede k rychlému zvyšování dávek. Mezi příznaky užívání morfinu patří únava, podrážděnost, náladovost, nechutenství, hubnutí, suchost kůže a její žluté zbarvení. Na morfin vzniká silná somatická závislost.

K dalším látkám získávaným z opia patří lék Dolan a Kodein. **Kodein**, bílý krystalický alkaloid získávaný rovněž z opia, se používá k tišení kašle, má analgetické účinky. Při nitrožilní aplikaci vyvolá velmi rychle závislost stejnou jako u morfinu, ale abstinční příznaky jsou méně bouřlivé. Po aplikaci se část v játrech přemění na morfin a část je vyloučena močí.



obr. 9 Papaver somniferum

Heroin

Heroin (chemicky diacetylmorfin) vzniká synteticky acetylací morfinu. Čistý heroin je bílý prášek, nelegální heroin však mívá od bílé přes nažloutlou až po tmavě hnědou barvu. Heroin byl původně doporučován jako prostředek proti dýchacím potížím u pacientů s astmatem a tuberkulózou a původně se používal dokonce na závislost na morfinu, velmi brzy se však přišlo na to, že vytváří daleko hlubší a závažnější návyk než morfin. Patří mezi derivát opia a z této skupiny se vyznačuje nejvyšší návykovostí. Na nezákonném trhu s drogami je heroin k dostání jako „bílý prášek“ (získávaný diacetylací morfinu) a jako „hnědý cukr“ (získávaný diacetylací morfinu s přísadami kofeinu a dalších ředících substancí).

Nejčastější formou aplikace heroinu je intravenózní podání, při kterém vzniká návyk už po několika dávkách. Obvyklá účinná dávka činí 50 – 250mg, nejnižší uváděná smrtelná dávka je 200mg. V podstatě působí jako morfin, má ale 2 – 3x silnější analgetické účinky, lépe proniká do mozku, působí prudčeji, ale jeho účinek je kratší. Po aplikaci způsobí, asi na 1 až 7 hodin, stav obluzení a dochází k ovlivnění dechového centra, což může vést až k úmrtí. Po požití se zúží zornice a nastane celkový útlum. (Tuto nepříznivou skutečnost se toxikomané snaží odstranit tím, že současně s heroinem užijí např. pervitin nebo kokain). Příznaky akutního působení tedy jsou extrémní zúžení zornic bez reakce na osvit, pokles frekvence pulsu a krevního tlaku, lhostejnost ke k vnějším podnětům, strnulost, ospalost, setřelá řeč a potíže s koncentrací. Při chronickém působení dochází k těžké psychické a fyzické závislosti.

Pro opiáty typu heroinu a morfinu je typický *abstinenční syndrom*, který nastává u závislých po jejich vysazení. Projevuje se rozšířením zornic a poruchami vidění, dávením, stoupající dechovou a srdeční frekvencí, poruchami srdečního rytmu, nevolností, třesavkou, bolestmi kloubů, svalů a kostí, neklidem, nervozitou, apod.



obr. 10 diacetylmorfin

1.2 Terminologie užívaná WHO u závislostí a toxikologická terminologie:

Abuzus – je patologické, škodlivé zneužívání látek

Závislostí rozumíme sociálně pracovní problémy trvající aspoň jeden měsíc. Poruchy cerebrálních neurotransmisí, reverzibilní anebo ireverzibilní.

Závislost psychická – se projevuje pocity uspokojení a touhou znovu aplikovat drogu, znovu dosáhnout blaženost a vyhnout se nepříjemným pocitům.

Závislost fyzická (somatická) je adaptací organismu na přítomnost drogy, provázená vývojem tolerance a manifestovaná syndromem z odnětí, abstinenčním syndromem

Tolerance – znamená potřebu zvyšovat dávku k dosažení stejného efektu jako dříve.

Syndrom z odnětí – je charakterizován nepříjemnými pocity při absenci drogy nebo potlačení jejího účinku specifickým antagonistou. Odvykací příznaky mohou být tělesné (křeče) nebo psychické (deprese). Jsou trýznivé, samy o sobě mohou (křeče) a nemusí (deprese) ohrožovat život.

Senzibilizace, senzitivace je prodloužení a zintenzivnění účinku, zvýšení toxicity u následných dávek.

Flash back je stav jakoby po požití drogy i když droga nebyla aplikována. Může nastat za řadu měsíců i let po poslední dávce, často se vyskytuje po užití halucinogenů.

Toxitou označujeme schopnost chemických látek působit na živé organismy nepříznivě (toxicky).

Toxická látka je chemická látka vykazující nepříznivé (toxické) účinky.

Chemickou látkou rozumíme chemické prvky (elementy) a sloučeniny těchto prvků definovaného složení, respektive jejich směsi.

Toxicita chemických látek je podmíněna řadou faktorů. Jsou to zejména chemické vlastnosti látek, které vyjadřují jejich reaktivitu, tj. schopnost vstupovat do reakcí s jinými látkami, fyzikální vlastnosti, jako je skupenství látky, její struktura, body varu a tání, rozdělovací koeficienty, chování v elektrickém či magnetickém poli, rozpustnost apod. a biologické vlastnosti, vycházející z chemických vlastností látek, tj. jejich schopnosti vstupovat do reakcí s jinými molekulami látek, které jsou součástí živých organismů.

Jako jedovaté označujeme takové chemické látky, které již v malých dávkách nebo nízkých koncentracích vyvolávají těžké poškození organismu nebo vedou k jeho zániku.

Definice jedu je velmi složitá z toho důvodu, že lze jen obtížně kvantifikovat takové pojmy jako je "malá dávka" či "nízká koncentrace". Přesto, že byla vyřčena řada definic charakterizujících jed, stále platná je jedna z nejstarších, kterou vyslovil již počátkem 16. století Paracelsus (Theophrastus Aureolus Bombastus von Hohenheim, 1493-1548): *Všechny látky jsou jedy a závisí jen na dávce, kdy látka přestává být jedem a stává se léčivem.* Znamená to tedy, že toxicky mohou působit i látky s nízkou toxicitou, jsou-li podány v dostatečné dávce.

1.3 Jed, intoxikace, toxicita

Jed je látka, která po vniknutí do organismu v malém množství vyvolá po vstřebání chorobné změny.

Toxicita je schopnost látek působit na živé organismy toxicky (nepříznivě). Vyjadřuje se obecně dávkou, potřebnou k dosažení určitého účinku (např. letální dávka).

Jedy se z hlediska mechanismu toxicity dělí do 3 skupin:

1) *Jedy funkční* poškozují funkci jednoho nebo více orgánů. Jejich toxicita je ve vztahu ke koncentraci v cílovém orgánu nebo na receptorech a následná odpověď závisí na eliminaci jedu z těchto míst.

2) *Jedy poškozující* vyvolávají orgánové nebo celulární léze jejich toxicita závisí na maximální koncentraci dosažené v cílovém orgánu.

3) *Jedy působící oběma mechanismy*, které nejprve působí jako funkční jed a po určitém časovém intervalu dochází k orgánovému či celulárnímu poškození.

Otrava neboli *intoxikace* je chorobný stav, který je vyvolán vstupem jedu do organismu, jeho vstřebáním a zásahem do metabolických dějů, což se projeví změnami funkčními nebo morfologickými. Tento stav může jako celkové onemocnění končit i smrtí organismu. Jedná se tedy o interakci jedu a organismu. Velmi důležitým faktorem charakterizujícím intoxikaci je dávka.

Intoxikace se může projevit lokálně a nebo systémově. *Lokální toxické účinky* se projevují v místě prvního kontaktu toxické látky- s biologickým systémem - kůží, trávícím traktem, respiračním traktem (např. požití leptavých látek, inhalace dráždivých látek). *Systémová toxicita* nastává po většině toxických látek. Všechny orgány však nejsou zasaženy stejně silně. Většinou se toxicita projeví na jednom či dvou orgánech, které se pak pokládají za tzv. cílové orgány. Cílovým orgánem systémové toxicity je nejčastěji centrální nervový systém, dále pak krev a krevtovorný systém a vnitřní orgány. Nejméně často jsou cílovými orgány sval a kost. Cílovými orgány nemusí být ty orgány, v nichž je nejvyšší koncentrace toxické látky.

Intoxikaci můžeme rozdělit podle několika hledisek:

a) Akutní intoxikace: jedy neurotoxické, hepatotoxické, nefrotoxické, kardiotoxické, embryotoxické,...

b) Chronická intoxikace: vývoj poškození, karcenogenita, genotoxicita,...

Rozdělení dle brány vstupu do organismu záleží na fyzikálních a chemických vlastnostech jedu: (skupenství, těkavost, rozpustnost v tucích apod.). Podle toho zda jedy pronikají přes dýchací, trávicí ústrojí či kůži můžeme otravy dělit na *injekční, perorální a perkutánní*.

Často je klasifikace toxických látek prováděna na základě jejich rozdílné toxicity, vyjádřené velikostí tzv. střední smrtné dávky LD_{50} .

Klasifikace toxických látek podle LD_{50} (střední letální dávka):

<i>CHEMICKÁ LÁTKA</i>	<i>LD_{50}</i>
Supertoxická	5 mg.kg⁻¹ a méně
Extrémně toxická	5-50 mg.kg⁻¹
Vysoce toxická	50-500 mg.kg⁻¹
Středně toxická	0.5-5 g.kg⁻¹
Málo toxická	5-15 g.kg⁻¹

Příklady LD_{50} některých chemických látek pro člověka při perorálním podání:

<i>CHEMICKÁ LÁTKA</i>	<i>LD_{50} (mg.kg⁻¹)</i>
Etanol	7000
Morfin	900
Nikotin	1
Botulotoxin	0.00001

Zdroj: J. Patočka, Vojenská toxikologie, Grada 2004

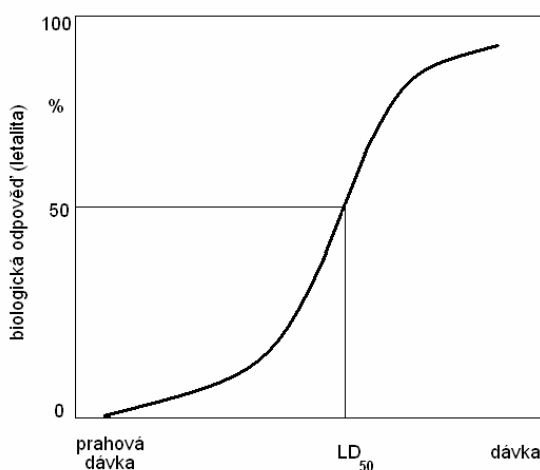
Rychlost působení jedu závisí na mnoha faktorech a to na *rychlosti resorpce, velikosti dávky, rezistenci organismu*.

Látka ve vodě dobře rozpustná působí rychleji, látka ve vodě špatně rozpustná může však být rozpuštěna v jiném mediu, např. v alkoholu. Lipofilní látky snadno pronikají do buňky a odchází tedy k rychlejší intoxikaci.

Dále je pro rychlost resorpce rozhodujícím faktorem cesta vstupu, nejrychleji působí jedy inhalované či aplikované intravenózně, pak intramuskulárně a subkutánně, rektálně a posléze perorálně.

U jedů dobře rozpustných se po větší dávce dosáhne větší koncentrace v krvi a tkáních a pak jed působí rychleji.

Typická závislost toxicity na dávce látky



Rezistence organismu je ovlivněna několika faktory:

- Pohlaví: Muži bývají vůči jedům více rezistentní než ženy, u nichž může odolnost organismu klesat ještě více v období gravidity či při menstruaci.
- Věk: Děti jsou méně rezistentní vůči morfinu než dospělí jedinci.
- Zaměstnání: Při dlouhodobém styku s určitou noxou dochází k adaptaci organismu, který poté snáší bez poškození větší dávky jedů.
- Tolerance: Při opakovaném podávání určité látky (nejen jedu, ale i jiných látek- léčiv apod.) je třeba postupně navyšovat dávku, aby se dosáhlo téhož účinku (toxikoman závislý na morfinu či kokainu bere denně dávku, která by nezávislého jedince usmrtila).

Obecně platná pravidla pro léčení akutních otrav:

Při léčbě se používají postupy pro snížení resorpce jedu jako je vyprázdnění žaludku, urychlení pasáže střevem, adsorpce na aktivní uhlí, snížení resorpce jedů rozpustných v tucích, podání chemického antidota.

Dále se využívají postupy pro zrychlení eliminace jedu forsírovanou diurézou², pomocí výměnné transfuze či dialýzy. Pomocí forsírované diurézy lze dosáhnout renální eliminaci mnohých jedů.

Důležitá jsou samozřejmě symptomatická opatření (kontrola oběhu, dýchání, tělesné teploty, funkce CNS a vegetativních orgánů, apod.).

Detoxikace jedů již přivedených do organismu se provádí pomocí přímé chemické změny, častěji se však naskytne možnost snížit účinek jedu specifickým nebo funkčním antagonismem. Ke kompetitivnímu soutěžení dvou látek o jeden receptor patří např. podání naloxonu při předávkování morfinu.

1.4 Farmakokinetika, metabolismus

Pro vývoj toxikologických metod, jejich vhodnou aplikaci v konkrétním případě, pro interpretaci zjištěných analytických nálezů je nutná znalost osudu noxy v organismu, jejího metabolismu a také účinků. Proto jsou zde nutné znalosti základů anatomie, fyziologie a farmakologie. Charakter a závažnost otravy jsou charakterizovány farmakodynamikou i farmakokinetikou.

Farmakokinetika (někdy též toxikokinetika) se zabývá osudem toxické látky v organismu od jejího průniku do organismu (absorpce), přes její rozdělení do jednotlivých tkání a buněk (distribuce), až po její vyloučení (exkrece). Chemická látka často podléhá v organismu řadě biochemických reakcí, při nichž se mění (transformuje) na látky jiného chemického složení (biotransformace). Toxikinetika nesleduje, jaké toxické účinky chemická látka v organismu vyvolává.

Farmakodynamika charakterizuje jak noxa působí na organismus.

² Forsírovaná diuréza- postup k podpoře tvorby moči spočívající v kombinaci dostatečného zavodnění pacienta infuzemi a podání diuretik

Základní procesy, které řídí transport a distribuci nox v organismu, tj. difuzi, pronikání membránami, vazbu na plazmatické bílkoviny, rozdělování do tkání, ovlivňují celkové chování molekul nox v organismu a mohou být rozděleny do 3 fází:

- absorpce z místa aplikace
- distribuce v organismu
- metabolismus, eliminace

Počátek, trvání a intenzita působení noxy (léčiva či drogy) po aplikaci je dána *rychlostí s jakou noxa dosáhne cílového místa akce, a koncentrací noxy na receptoru*. Po intravenózním podání léčiva je dosažena téměř okamžitě maximální krevní koncentrace a zpočátku plazmatická koncentrace rychle klesá, protože řídicí proces je distribuce (α fáze). Následuje pomalejší pokles v eliminační fázi (β fáze). Po perorálním podání se plazmatická koncentrace během resorpce postupně zvyšuje a potom klesá, když se stává řídicím procesem eliminace.

1.4.1 Absorpce

Aby nastal účinek, musí se noxa dostat do krevní cirkulace a k cílovému orgánu. S výjimkou intravenózní aplikace je prvním procesem absorpce buď z GIT³ a nebo z míst vpichu, popř. z plic či povrchu kůže. Způsob podání významně ovlivňuje rychlost a rozsah absorpce. Z hlediska toxikologie je významná především absorpce z GIT. Komplexní faktory řídí uvolňování účinných složek. Poté se uplatňuje princip rozdělování molekul podle stupně ionizace slabých kyselin a bází, což je velká část nox z oblasti léčiv a drog. Průchod neionizovaných molekul nox do krve se děje mechanismem pasivní difúze přes tukové membrány buněk střevní či žaludeční stěny. Je to určité zjednodušení, protože žaludeční či střevní stěna není jednoduchá tuková membrána, ale vrstva buněk. Všeobecně absorpce nox závisí na vzájemném

³ GIT- gastrointestinální trakt

koncentračním poměru v trávicím ústrojí a v krvi. Absorpce nastává podél celého trávicího ústrojí od žaludku po rektum, ale největší podíl noxy bývá vstřebán v horní části tenkého střeva díky dobré peristaltice, dobrému zásobení krví a vhodnému pH.

Biologická dostupnost noxy v dané formě při užitém způsobu podání vyjadřuje podíl, v jakém je noxa absorbována do krevní cirkulace v nekonečném čase při jednotlivé dávce anebo v rovnovážném stavu, vzhledem k intravenóznímu podání, které představuje 100 %.

V některých případech nastává enterohepatální cirkulace. Noxy a jejich metabolity, které jsou vylučovány játry do žluče, následně procházejí do střev. Tyto sloučeniny (s větší molekulou a hydrofilní skupinou) mohou být reabsorbovány buď přímo nebo nepřímo formou metabolitů. Enterohepatální cirkulace prodlužuje přetrvávání noxy v těle a někdy může vést k e zpožděné intoxikaci nebo k toxicitě způsobené absorpcí metabolitu vytvořené střevními bakteriemi.

Noxy, které podléhají enterohepatální cirkulaci, mohou být detekovány ve stolici, i kdyby byly podány parenterálně.

1.4.2 Distribuce

Poté co byla noxa absorbována a dostala se do krevní cirkulace je distribuována do různých míst těla. Distribuce do jednotlivých tělních částí – kompartmentů závisí na:

- prokrvení jednotlivých tkání
- rozdělovacím koeficientu noxy mezi krev a tkáň
- stupni ionizace noxy při konkrétním pH plazmy
- polaritě a velikosti molekul noxy
- vazbě noxy na proteiny plazmy a tkání.

Distribuce noxy v těle můžeme vyjádřit pomocí hypotetické veličiny, tj. *distribučním objemem* V_d :

$$V_d = a/c$$

a = množství noxy v těle

c = plazmatické koncentrace pro dosažení distribuční rovnováhy

Hodnota distribučního objemu pro určitou noxu je dána převážně procesy pronikání membránami a stupněm vazby na proteiny, nemá tedy přímý fyziologický význam.

Pokud je známa hodnota distribučního objemu, lze z dávky řádově odhadnout výši očekávané plazmatické koncentrace a naopak, pokud je ovšem ustavena distribuční rovnováha.

V ideálním případě v rovnovážném distribučním stavu, pokud je známa doba t uplynulá od aplikace noxy a pokud jsou známa základní farmakokinetická data, by mělo být teoreticky možné odhadnout aplikovanou dávku D podle vztahu platného pro kinetické procesy 1. řádu:

$$D = V_d \cdot c \cdot e^{k_{(el)} t}$$

$k_{(el)}$ = eliminační konstanta

Prakticky však, a to hlavně u intoxikací, nebývá známa doba dávky a vztahy jsou obecně mnohem komplikovanější, zejména díky distribucím nox do tkání a jejich vyplavování. Do některých tkání noxa proniká pomaleji, do jiných rychleji. Distribuci noxy mezi plazmou a tkáněmi ovlivňuje také způsob aplikace noxy a to, zda byla podána jedna dávka a nebo opakované následné dávky.

Častou komplikací u intoxikací je konzumace směsí nox, kde lze očekávat vzájemné ovlivňování farmakokinetiky a farmakodynamiky.

1.4.3 Eliminace

Velká část nox je eliminována z organismu především metabolismem v játrech a / nebo vylučováním nox a jejich metabolitů ledvinami. Metabolismus a eliminace však

mohou probíhat i v jiných tkáních (např. v plicích) a vylučování nox a jejich metabolitů také žlučí a stolicí.

Schopnost organismu eliminovat noxu je někdy vyjadřována jako *clearance*, tj. objem plazmy, ze které je noxa zcela odstraněna za jednotku času. Clearance se uvádí v jednotkách objem / čas (např. ml/ min.). Clearance různých orgánů jsou aditivní, celková clearance je tedy součtem clearancí jednotlivých orgánů.

Účinnost orgánu eliminovat samozřejmě závisí na jeho zdravotním stavu, poškozené ledviny tedy mají sníženou eliminační schopnost a změna v jejich clearanci odpovídá míře poškození.

Ledvinami se za jednotku času může vyloučit tolik látky kolik je jí obsaženo v objemu plazmy, která filtrací glomeruly prošla. Jestliže je ale látka vázána především ve tkáních a v plazmě se téměř nevyskytuje, pak „očištění“ určitého objemu plazmy v čase ke snížení celkového množství látky v organismu podstatně nepřispěje. Na základě dynamických rovnováh se látka postupně uvolní ze tkání a příslušný díl plazmy musí být znovu očištěn. Z toxikologického hlediska koncept clearance neposkytuje informaci o přetrvávání noxy v těle. Čím větší je hodnota distribučního objemu V_d , tím pomaleji při dané hodnotě clearance Cl probíhá eliminace látky z organismu.

Poměr clearance a distribučního objemu představuje podíl noxy eliminovaný z těla za jednotku času. Je to vlastně rychlostní konstanta eliminace podle kinetiky 1.řádu:

$$K_{el} = Cl / V_d$$

Eliminační poločas je čas potřebný k tomu, aby plazmatická koncentrace noxy klesla o 50 %. Je měřítkem rychlosti nevratného odstranění noxy z organismu. Čím větší je hodnota V_d , tím pomaleji při dané hodnotě clearance probíhá eliminace látky.

1) Eliminace játry

V játrech se odehrávají metabolické reakce a proto jsou důležitým orgánem. Noxy se do jater dostávají ze systémové cirkulace jaterní arterií a dále z gastrointestinálního ústrojí portální žilou. Na noxy v játrech okamžitě začnou působit enzymy a tím tedy noxy, přivedené portální žilou z GIT, metabolizují dříve než dosáhnou systémové

cirkulace. Tento efekt nazýváme *first-pass effect*. Následkem toho bývá nízký a variabilní podíl perorální dávky dosahující systémové cirkulace. Noxy jsou játry eliminovány buď v původních formách nebo jako metabolity žlučí a nebo jaterními žilami.

2) Eliminace ledvinami

Noxy v plazmě přicházejí do ledvin o celkovém průtoku pro obě ledviny 1400 ml/min. Plazma je filtrována v glomerulech, což je hlavní místo vylučování. Filtrace je pasivní proces jenom nevázaný podíl nox na bílkoviny je reabsorbován zpět do plazmy difúzí přes stěny ledvinných kanálků, které jsou průchozí pro neionizované lipofilní substance. Reabsorbce se děje difúzí ve směru vyrovnání koncentračního gradientu. Filtrát je postupně zkoncentrován průchodem tubuly ledvin, až se vytvoří moč. Asi 575 ml / min. plazmy cirkuluje v těsném kontaktu s proximálními i distálními renálními tubuly.

Důležitý faktor ovlivňující variabilitu vylučování noxy do moče je kromě stavu ledvin a toku krve také hodnota pH moče.

Interpretace naměřených hodnot v moči ve vztahu k plazmě není jednoduchá. Přibližný vztah může být odvozen za předpokladu, že průměrný denní výdej moče u zdravého dospělého jedince asi 1500ml (tj. 1 ml / min.). Za tohoto předpokladu je potom množství Q vyloučené do moče v krátkém časovém intervalu t dáno součinem renální clearance Cl a průměrné plazmatické koncentrace c v tomto intervalu:

$$Q = c \cdot Cl \cdot t$$

Za těchto podmínek, pokud je známa koncentrace noxy v moči, objem moče za časový interval a konstantní renální clearance, může být vypočtena přibližná plazmatická koncentrace. Protože velká část nox z okruhu léčiv a drog mívá renální clearance větší než 1 ml / min., pak platí, že koncentrace v moči budou převyšovat koncentrace v krvi. Z tohoto důvodu je proto *moč vhodným materiálem pro počáteční screeningové postupy*. Jestliže se však renální clearance mění s tokem moče mohou se

objevovat sekvence náhodně se střídajících pozitivních a negativních nálezů během analýz postupně odebíraných vzorků moče a výpočet plazmatické koncentrace pak nebude možný provést.

1.4.4 Akumulace nox

Noxy se akumulují v plazmě nebo ve tkáních, jestliže je aplikována velmi vysoká dávka anebo opakovaně více než jedna dávka a interval mezi dávkami je menší než čas potřebný k eliminaci dávky předchozí. Za těchto podmínek se změní také časový průběh plazmatické koncentrace a tkáňové koncentrace.

Akumulace je řízena:

- velikostí dávek
- intervalem mezi dávkami
- rychlostní eliminační konstantou

Akumulace je v toxikologii velmi významná, neboť velké nebo opakované dávky mohou vést k zrádnému předávkování. Míra akumulace při pravidelných terapeutických dávkách může být odhadnuta. Po každé následné dávce maximální, minimální a střední plazmatické koncentrace bude vyšší než při dávce předchozí.

Stupeň akumulace je poměr množství noxy v těle v ustáleném stavu vzhledem k dávce.

1.5 Biotransformace

Biotransformace je proces, při kterém dochází k přeměně xenobiotik na neúčinné nebo účinné metabolity. Jedná se o rozsáhlé změny chemické struktury cizorodých látek způsobené jejich působením na organismus.

K biotransformaci dochází v řadě orgánů, z nichž nejdůležitější jsou játra, dále ledviny, plíce a další parenchymatosní orgány. Játra jsou nejvýznamnějším biotransformačním orgánem, v němž dochází k přeměně většiny chemických látek, vstupujících do organismu. V játrech je biotransformační proces vázán na všechny

játerní buňky (hepatocyty), zatímco v ostatních orgánech má tuto schopnost jen omezené množství specializovaných buněk.

Biotransformace může probíhat ve dvou fázích, ale existují i látky, které biotransformaci nepodléhají. Takové se vylučují ve formě, v jaké do organismu pronikly. Většina xenobiotik je však metabolizována a vylučována jako metabolity.

Jednotlivé pochody, vedoucí ke strukturálním změnám v molekule xenobiotika jsou uváděny jako biotransformační reakce. Obecně lze biotransformační reakce rozdělit na 2 fáze:

a) reakce I. fáze (nesyntetické) mění strukturu xenobiotika pomocí oxidace, redukce či hydrolyzy. Na biotransformačních reakcích se podílí několik enzymových systémů, z nichž nejdůležitější je komplex cytochromu P-450. Ten odpovídá za hydroxylaci alifatických i aromatických sloučenin, za deaminaci. Cytochrom P450 je místem, ve kterém je vázán kyslík i substrát (=xenobiotikum). Skutečnost, že tento enzym je schopný oxidovat značně odlišné struktury je vysvětlována existencí izoenzymů.

b) reakce II. fáze (syntetické) jsou konjugiční reakce, jako např. reakce na kyselinu sírovou, glukuronovou nebo glycinem., tato fáze zahrnuje řadu syntetických reakcí, při nichž jsou xenobiotikum nebo jeho metabolity konjugovány s endogenními látkami za vzniku nových chemických sloučenin, které jsou potom exkretovány. Takové látky jsou proto označovány jako konjugáty. Častou reakcí je například konjugace kyseliny glukuronové s fenolickými a alkoholovými skupinami, kdy dochází k lepší rozpustnosti látky ve vodě, snazší renální eliminaci a ke snížení toxicity nového metabolitu.

Všechny biotransformační reakce jsou řízeny enzymovými systémy, které jsou v buňce lokalizovány v oblasti endoplasmatického retikula. Enzymy zodpovědné za I. fázi biotransformace jsou lokalizovány v mikrozomech⁴ a enzymy podílející se na II.

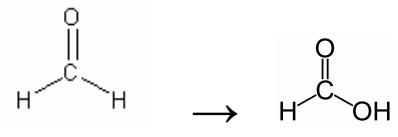
⁴ mikrozomy- frakce vzniklá při dělení buněčného materiálu centrifugací, obsahuje zejména membrány plazmatického retikula. Nejsou skutečnými organelami

fázi jsou v cytosolu⁵. Enzymová výbava je však u jednotlivých druhů živočichů značně odlišná, proto může být stejná látka u jednotlivých druhů živočichů rozdílně metabolizována. Proto je přenos metabolických experimentů prováděných na laboratorních zvířatech někdy obtížně přenositelný na člověka. Rozdíly v enzymové výbavě však existují i v rámci druhu, protože zde existuje geneticky podmíněný polymorfismus. Ten má za následek, že u některých jedinců se chemická látka může metabolizovat mnohem rychleji či naopak mnohem pomaleji než u jiných nebo může být dokonce metabolizována i rozdílným způsobem. Z toho potom vyplývá, že různí jedinci jsou k toxickému účinku chemických látek různě citliví. Další rozdíly je možno pozorovat i mezi pohlavími a mezi mladými a starými jedinci.

Bioaktivace

Jen v ojedinělých případech je výsledkem biotransformace látka, která má větší toxicitu, než látka původní. Takový způsob biotransformace bývá někdy označován jako *bioaktivace* nebo *letální syntéza*, bývá tomu tak např. u některých karcinogenů.

Příklad biotransformační reakce I.fáze:- oxidace alkoholů

<i>xenobiotikum</i>	<i>Metabolit</i>
$\text{CH}_3 - \text{OH}$ <i>metanol</i>	 <i>formaldehyd</i> <i>kys. mravenčí</i>

⁵ cytosol- termín užívaný v biochemii pro cytoplasmu, resp. Homogenní snad nestrukturovanou hmotu uvnitř buňky mimo organely, a cytoskelet

Příklad konjugačních reakcí biotrasformační fáze II:

Konjugační složka	Charakteristické skupiny schopné konjugace	Označení konjugátu
Kyselina glukuronová	-OH fenolový, alkoholový, enolový -COOH -NH ₂ , -NH- -SH	O—glukosiduronát ⁶ typu éteru O-glukosiduronát typu esteru N-glukosiduronát S- glukosiduronát
Kyselina sírová	-OH fenolový, alkoholový -NH ₂ aromatický	O-sulfát N-sulfát
Glycin	-NH ₂ aromatický -COOH	Kyselina urová

1.6 Vliv noxy na buňku

Primárním místem zásahu toxické látky je vždy buňka. Toxická látka postihuje buňku buď selektivně (specificky) nebo celý soubor buněk (nespecificky) až organismus. Studium toxicity a intoxikace na úrovni orgánových změn, tj. na *makroúrovni*, je poměrně složitá záležitost, v které se uplatňuje velké množství rozličných faktorů. Z nich jsou nejdůležitější:

- Otázka koncentrace působící škodliviny (dávka)
- Doba, po kterou toxické látky působí
- Fyzikální a chemické parametry toxických látek
- Cesta vstupu toxických látek do organismu
- Individuální charakteristika intoxikovaného organismu
- Fyziologické a patologické podmínky

⁶ Glukosiduronáty byly dříve označovány jako glukuronidy

Podstatně jednodušší situace nastává převedením celé problematiky z makroúrovně do *mikroúrovně*. Tím se problém toxického účinku dostává na molekulární a buněčnou úroveň. Základním východiskem je konstatování, že primárním místem účinku toxické látky je buňka. Principiálně mohou být toxickými látkami poškozené:

- a) všechny buňky či soubory buněk
- b) selektivně jen buňky určité tkáně anebo orgánu

Při sledování intoxikace na ještě nižší úrovni je možné konstatovat že vlastním mechanismem intoxikace je interakce molekul toxických chemických látek s některými molekulami buněk. Tato úroveň interakcí bývá označovaná jako *úroveň molekulární*. Výslednou interakcí mezi molekulami toxických chemických látek a molekulami buňky bývá:

- změněný průběh biochemických reakcí
- změněný průběh biologických procesů
- poškození buněčné struktury.

Tyto primární změny na molekulové úrovni se promítnou zákonitě do úrovně buněčné. Dochází následně k tzv. cytopatickému efektu, který se projeví postřehnutelnou změnou funkcí i změnou struktury buněk. Tento efekt se dále transformuje až na úroveň tkáně, orgánů, případně celého organismu.

Buňky rozličných tkání jednoho organismu nejsou stejně citlivé k určité toxické látce, což je způsobeno jejich:

- a) odlišnou strukturou
- b) odlišnými metabolickými procesy
- c) rozdílnou charakteristikou průniku škodliviny
- d) rozdílnou schopností detoxikačních mechanismů.

1.6.1 Vazba látky

Specifická vazba

Pod pojmem specifická vazba rozumíme vazbu látky na specifický receptor. Zakladatelem receptorové teorie je profesor Ehrlich, který jako první vyslovil názor, že základem působení biologicky aktivních látek musí být interakce mezi určitými tzv. kritickými místy v organizmu a určitými toxickými chemickými látkami. Receptory jsou oblasti v biomakromolekulách, které selektivně reagují na určité toxicky působící chemické látky. Silové pole receptorové oblasti umožňuje vzájemnou interakci se silovým polem mobilních toxických látek. Interakce je tím silnější, čím bližší je vzájemná strukturní a elektronová podobnost mezi receptorem a toxickou látkou.

Receptory se dělí na:

- jednoduchý (monomolekulární) receptor. Je složený jen z jedné molekuly a je schopný vytvořit trvalou (stálou-ireverzibilní) vazbu
- komplexní receptor. Ten je složen z definované makromolekulové komponenty spojené s nízkomolekulární složkou jako je např. kov. Vytváří se jen vazba dočasná (reverzibilní)
- mezimolekulární receptor, je sestavený z několika makromolekul

K interpretaci receptorové teorie se z didaktického hlediska používá určitá analogie se zámkem a klíčem. Dřív, než bude vysvětlená tato myšlenka, je potřeba definovat pojmy používané v receptorové teorii, a to afinita a vnitřní aktivita. *Afinita* - je souhrn všech vazebných schopností toxické látky tvořit komplex s molekulami receptoru. *Vnitřní aktivita* - je schopnost stimulovat receptor. Zámek je zde receptorem a klíč je toxická látka, případně od ní odvozený účinný metabolit. Látky, které mají jen afinitu, pronikají sice do zámku, ale nedokážou ho otevřít (postrádají vnitřní aktivitu). Avšak v případě, že se jedná o skutečný receptor dané toxické látky, nejen že klíč do zámku pronikne, ale také ho otevře (látka má vnitřní aktivitu).

Vazba nespecifická

Receptory představují jen velmi malou část struktur, na které se toxické látky mohou v tkáních navázat. Většina molekul toxických látek se proto váže nespecificky. Takto vázané toxické látky jsou toxikologicky neaktivní. V mnohých případech se však jedná o kumulaci látky v organismu a toxický účinek se objeví mnohem později. V takových případech se jedná o zdánlivou *toxikologickou inaktivitu*.

1.7 Forenzní toxikologie

Toxikologie je multidisciplinární věda o poškození živého organismu následkem působení jedů a jejich metabolitů. Úkolem toxikologie je identifikovat jed a zjistit účinky jedů, a to s cíli diagnostickými, preventivními, terapeutickými a forezními.

Soudní (forenzní) toxikologie se jako jedno z odvětví oboru toxikologie zabývá způsoby a zejména sledováním a posuzováním důsledků vzájemného působení chemických látek a lidského organismu jako celku a své poznatky uplatňuje ve vztahu k řešení některých medicínsko- právních otázek a problematiky z oblasti trestního i občanského práva a pojišťovnictví. U *forenzní toxikologie* je předmětem zájmu vyhledávání neznámé noxy a její správná identifikace a kvantifikace pro vysvětlení toxických účinků, popřípadě příčiny úmrtí. Forenzní toxikologie se zaměřuje na zkoumání materiálu post mortem a na zkoumání biologických vzorků živých osob, zejména ve vztahu k návykovým látkám v dopravě, v pracovním procesu.

Stejně jako ostatní toxikologické obory má i forenzní toxikologie složku analytickou a medicínskou. *Analytická část* je zaměřena na průkaz a kvantitativní stanovení jedů v biologickém i nebiologickém materiálu. *Část medicínská* vychází z poznatků o působení xenobiotik na lidský organismus, o rozdělení, anamnéze, léčbě a morfologii otrav a ve spojení s výsledky toxikologických analýz poskytuje podklady pro hodnocení jejich prognózy, množství prevence a případných dopadů pro potřeby zdravotnictví i práva.

Z celospolečenského hlediska má obor soudní toxikologie, resp. soudní lékařství své místo také v oblasti občanskoprávní, převážně však v trestněprávní. Podílí se mimo jiné na sledování a analýzách příčin některých závažných negativních společenských jevů (např. trestných činů proti životu a zdraví, dopravní nehodovosti), na odkrývání alkoholové a drogové závislosti a jejich negativních dopadů ve společnosti, zejména v souvislosti s navazující trestnou činností, apod. Orgánům činným v trestním řízení poskytuje soudní toxikolog podklady pro objasňování a prevenci kriminality- provádí thanatotoxikologická a toxikologická vyšetřování biologického materiálu a chemické analýzy doličných předmětů.

1.8 Toxikologická vyšetření

Nejčastějším úkolem při toxikologickém vyšetření je zjišťování přítomnosti neznámé látky v tělních tkáních a tekutinách. Pro živý organismus může být toxickou látkou cokoliv, záleží na toxicitě látky, požitém množství, zdravotním stavu dané osoby, způsobu aplikace, na přítomnosti dalších látek, apod. Může se jednat o látky kapalné, pevné i plynné, látky aplikované perorálně, inhalačně, intravenózně, které mohou působit dlouhodobě, opakovaně či jednorázově. Materiálu k vyšetření obvykle nebývá mnoho a důležitým faktorem je rovněž čas odběru, žádné dva případy nejsou tedy stejné a proto je třeba volit postup a techniku pro každý vyšetřovaný případ individuálně.

Základním předpokladem zdařilého toxikologického zkoumání je správná volba vhodných biologických vzorků k analýzám, a to v dostatečném množství vzhledem k řešenému úkolu v konkrétním případě. Velikost odebíraného vzorku by měla být dostatečná, aby bylo možné analýzu zopakovat. Každý jednotlivý vzorek musí být řádně označen. Odběry vzorků musí být protokolovány. Odběrové nádoby pro chemicko-toxikologická vyšetření musí být samozřejmě vhodné pro daný cíl vyšetření, musí být chemicky čisté a chemicky inertní, aby nedošlo k nežádoucí kontaminaci vzorku.

Vzorek musí být uchováván od odběru až do doby analýzy tak, aby se minimalizoval případný rozklad labilních analytů. Při požadavcích na vyšetření plyných a těkavých nox je nutné zamezit jejich ztrátám při odběru i při skladování.

V klinické a forenzní toxikologii se uplatňují postupy **systematické analytické toxikologie (STA)**. STA jsou řešením pro vyhledávání a určení předem neznámého jedu, potencionálně přítomného v biologickém materiálu. Tento jed může být ve formě původní i ve formě metabolitů. STA znamená logické řazení postupů, kdy z dílčích výsledků vyplývá volba postupů následných. Podmínkou správného a účelného uplatnění postupů analytické toxikologie a interpretace nálezů je znalost osudů toxik v organismu a možných toxických projevů.

Systematickou toxikologickou analýzu můžeme obecně shrnout do těchto bodů:

1. Screening (záchyt)
2. Průkaz (identifikace)
3. Kvantifikace (stanovení)
4. Interpretace

Screening využívá imunochemické metody pro skupinový záchyt, tenkovrstevnou chromatografii v kombinaci se systémem barevných reakcí, plynovou a kapalinovou chromatografii. Jedná se o vylučovací nespecifické metody pro toxikologicky významné skupiny látek (chemické skupiny). Rozlišuje tedy pozitivní a negativní vzorky. Screening znamená vždy suspektní záchyt, není nikdy průkazem či stanovením.

Identifikace je prokázání chemického individua. Využívá často techniky chromatografické, například plynovou chromatografii s hmotnostní detekcí, kapalinovou chromatografii s identifikací absorpčních spekter v kombinaci s retenčními indexy prokazovaných látek, tenkovrstevnou chromatografii v různých systémech vyvíjecích soustav mobilních fází, sorbetů i uspořádání a detekčních činidel.

Kvantifikace je stanovení hladiny toxické látky v séru či jiném hodnotitelném biologickém materiálu.

Interpretace je závěrečné vyhodnocení nálezů toxikologa a lékaře.

I přes stále se zlepšující vybavení toxikologických laboratoří, rozšíření instrumentálních technik a metodik i zlepšení dostupnosti léčiv, bývá stále problémem nedostatek standardních látek definovaného složení, nutných pro srovnání a kvantitativní vyhodnocení analýz. Chemická individua jsou drahá, často patří do seznamu jedů, omamných a psychotropních látek.

1.9 Laboratorní diagnostika

1.9.1 Základní informace, výběr vzorků

Základní informace, které musíme před začátkem práce znát jsou:

- Cíl vyšetření (neznámá noxa, cílená analýza)
- Anamnéza případu (akutní otrava, chronická otrava)
- Dostupné analytické možnosti (přístrojové vybavení)

Informace o vystavení organismu působení nox mohou být získány chemicko-toxikologickým vyšetřením biologických vzorků. Volba a příprava vzorku je tedy velmi důležitou částí celé analýzy a měl by jí být přikládán velký zřetel. Výskyt nox v jednotlivých biologických tkáních je závislý na jejich fyzikálně-chemických vlastnostech, na metabolismu, způsobu aplikace, délce a frekvenci expozice. Ne vždy jsou však všechny potřebné údaje známy a z tohoto důvodu je důležité věnovat pozornost veškerým dostupným anamnestickým údajům. Správný odběr, transport a uchovávání materiálu je jedním ze základních předpokladů úspěšnosti toxikologické analýzy.

Podle původu biologický materiál dělíme:

- a) získaný od živých pacientů (zvratky, žaludeční výplach, moč, krev, někdy je důležitý střevní výplach)
- b) odebraný při pitvě (obsah zažívacího traktu, orgány, tělesné tekutiny)
- c) doličné předměty tj. materiál zajištěný v souvislosti s otravou (zbytky léků či chemikálií - i prázdné obaly, zbytky nápojů či jídel, resp. zbytky po jejich zpracování, použité nádoby,...)

Biologický materiál musí být odebrán do zcela čistých nádob, každý druh biologického materiálu musí mít zvláštní nádobu, je nutné jej označit štítkem (jméno osoby, druh materiálu, datum a čas odběru), dále musí být zajištěn proti rozbití a rozlítí a nesmí být chemicky konzervován. Pro odběr vzorků nejsou vhodné plasty uvolňující ftaláty, monomery, nevhodné jsou také některé plastové zátky, zkumavky s různými gely, určené k jiným typům laboratorních vyšetření. Je-li požadováno vyšetření těkavých látek (např. toluen) v krvi, je nutné odběr provést tradičním způsobem do skla, zkumavku naplnit až po horní okraj, těsně ji uzavřít gumovou zátkou a zafixovat náplastí anebo zajistit odběr do zkumavek určených pro chemická nespecifikovaná vyšetření. S každým materiálem by měla být zaslána i dokumentace (průvodka, žádanka –viz příloha), která by měla obsahovat vyčerpávající údaje o daném případě, kde by kromě osobních dat pacienta mělo být uvedeno:

- klinický stav a okolnosti případu
- předpokládané škodliviny (pokud jsou známy)
- předpokládaná doba aplikace noxy
- doba odběru vzorku
- druh vzorku
- použitá dezinfekce, případně konzervans
- terapie před odběrem vzorku
- identifikační data žadatele

Množství biologického materiálu se liší podle toho, zda jsou vzorky odebrány u živých či zemřelých osob. U živých dospělých osob se odebírají zvratky, cca 200 ml první porce žaludečního výplachu, 30 ml moče, 10 ml krve. Dále je možné odebrat sliny, pot, vlasy (s označením směru růstu, např. svázáním nitkou, vhodné je zabalit je do alobalu), mekonium (smolka), ve speciálních případech se odebírá i mateřské mléko. V případě odebírání vzorků u dětí je nutno brát v úvahu věk a tělesnou konstituci. U zemřelých osob se odebírá obsah žaludku a tenkého střeva (50 - 100 ml), obsah tlustého střeva v závislosti na druhu noxy a době přežívání, všechny dosažitelné tělesné tekutiny (moč, krev, žluč, sklivec,...), orgány (játra, ledviny, plíce, mozek,...) po cca 50 - 100 g.

Vzhledem k citlivějším toxikologickým metodám se v současné době potřeba biologického materiálu snižuje. I přesto je ale potřeba mít jej dostatek pro další uchování. Pro nutnost opakování analýzy, ať už z důvodu znehodnocení materiálu či pro opakování analýzy na žádost žadatele, se 2 měsíce zachovává ½ dodaného biologického materiálu. Krev se uchovává v uzavřené zkumavce v lednici, sérum (příp. jiný biologický materiál) je pro případy pozdější analýzy nutno zamrazit. Některé látky mají velké ztráty absorpcí na povrchu plastů (cannabinoidy,...)

Záchyt drog v biologickém materiálu

	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

1.9.2 Správná příprava vzorku

Drogy poskytují velmi široké spektrum strukturně odlišných organických extraktivních látek o různých fyzikálně chemických vlastnostech. Proto zásadní význam pro konečný výsledek analýzy má: vhodná volba biologického materiálu, vhodná volba a provedení izolačního postupu, znalosti o osudu látek v organismu, praktické zkušenosti v toxikologické laboratoři.

Účelem izolace drog je: oddělení analytů od nežádoucích interferujících látek z matrice (proteinů a lipidů, endogenních či exogenních součástí vzorku), zakonzentrování analytů v extraktu pro snížení mezí detekce, redukce nečistot v extraktu pro zvýšení citlivosti důkazu analytu, kompatibilita s chromatografickým systémem.

Pro screening je důležité izolovat co nejvíce neznámých látek ze vzorku. Izolace může být provedena extrakcí kapalina- kapalina, extrakcí na pevné fázi (přes kolonku se sorpčním materiálem, vymytí organickým rozpouštědlem), extrakce spojená s derivatizací) používá se zejména pro plynovou chromatografii s detekcí hmotnostní spektrometrií.)

Způsob podání a fyzikálně-chemické vlastnosti noxy určují rychlost absorpce do krevní cirkulace a průchod biologickými bariérami. Distribuce do jednotlivých tkání a tekutin začíná, jakmile se droga objeví v krvi. Transportovaný podíl do tkáně má vztah k prokrvení tkáně, k jejímu charakteru, k polaritě noxy a k vazbě na plazmatické bílkoviny. Jen volná nevázaná frakce drogy je převáděna z krve do jiných tkání či tekutin. Proces, který ovládá přestup noxy buněčnými membránami je zejména pasivní difuze řízená koncentračním gradientem volné frakce drogy. Během distribuční fáze se droga může akumulovat různou měrou v různých tělesných místech (kompartmentech). Nakonec je dosaženo pseudorovnováhy mezi všemi kompartmenty a koncentrace začnou klesat, jak nastává eliminační fáze. Droga je odstraňována z různých kompartmentů různě rychle a s podobnou rychlostí, s jakou se v nich objevovala. Velmi prokrvené tkáně budou očištěny nejdříve, zatímco méně prokrvené tukové tkáně zadržují drogy déle. Podobně se děje v malých kompartmentech, jako jsou slinné žlázy, kde je droga eliminována podobnou rychlostí jako z krve. Výhodný je prostup bazí placentární bariérou do vyvíjejícího se embrya, kde noxy mohou vytvářet depo ve vyvíjejícím se zažívacím traktu, v tzv. mekoniu, které lze krátce po porodu zajistit jako novorozeneckou stolku. V některých tkáních zůstává droga vázána irreverzibilně – např. ukládání do vlasů či nehtů. Eliminace z těla v tomto případě je odrůstání vlasů.

Při opakovaném podání noxy se procesy absorpce, distribuce a eliminace opakují. Jestliže je interval mezi opakovanými dávkami krátký, může nastat akumulace původní

formy či metabolitů, a to přednostně v některých kompartmentech. Například delta-9-tetrahydrokanabinol (9-THC) je rychle odstraňován z krve a slin, ale jeho metabolit se může hromadit a dlouho zadržovat v tukových tkáních zejména při chronických aplikacích.

Časový detekční interval po aplikované dávce drogy, tzv. *detekční okno*, potom závisí na analytických parametrech použité metody, na její detekční mezi pro konkrétní analyt, a časové možnosti detekce v různých biologických vzorcích po aplikaci.

Časové limity detekce drog

<i>materiál</i>	<i>časový údaj</i>
moč	1-3 dny (u kanabinoidů je to až 20 dní)
krev	hodiny
sliny	hodiny
vlasy	měsíce
smolka	měsíce

Screeningové imunochemické metody nebývají specifické, nerozlišují chemická individua uvnitř testované skupiny nox (např. morfin od kodeinu) a vyžadují následnou konfirmaci a upřesnění jinou nezávislou a specifickou metodou. Chromatografické metody jsou sice pracnější a odborně náročnější, vyžadují různé izolační postupy, ale jsou flexibilnější a zachytí noxy a jejich metabolity v mnohem širším rozsahu. Jejich uspořádání může být screeningové, pro detekci širokého okruhu potencionálních neznámých nox ve vzorku, anebo cíleně zaměřené pro konfirmaci nebo stanovení specifikované noxy. Obecně platí, že chromatografické screeningové metody jsou méně citlivé než metody cílené, které jsou optimalizované pro užší okruh strukturně blízkých látek. Dostupnost výsledků chromatografických metod je pomalejší dle složitosti a neobvyklosti případu.

Dnes vyžadovaným toxikologickým standardem pro záchyt a identifikaci stop nox a jejich metabolitů v biologických tekutinách a tkáních je aplikace tandemových metod plynové nebo kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií.

1.9.3 Přehled toxikologických metod

Jednoduché chemické testy

Dnes se tyto typy testů již téměř nepoužívají, v některých případech však mohou být vodítkem pro aplikaci dalších postupů. Jejich výhodou je cena a rychlé použití. Jedná se například o metodu tečkovací reakce, která spočívá v přikápnutí reagentu do kapky vzorku na vhodné podložce a pozoruje se výsledné zbarvení.

Spektrofotometrie (měření množství světla propuštěného, odraženého nebo pohlceného jistou látkou v závislosti na vlnové délce). Dnes je tato metoda překonána modernějšími technikami, stále se však využívá například jako detekční způsob v tandemovém uspořádání s kapalinovou chromatografií a při specifických metodách.

Imunochemické metody

Tyto metody jsou založeny na principu, že mohou být produkovány protilátky, které rozpoznají specifické chemické struktury a vážou se na ně (dle principu zámeček a klíč), tvoří s nimi imunokomplex. Některé látky jsou specifické natolik, že se vážou na jedinou substanci, příkladem může být metamfetamin. Jiné látky jsou specifické méně a reagují s celou skupinou látek s podobnou strukturou (metamfetamin, amfetamin, efedrin apod.). Tyto metody jsou využívány při drogovém záchytu. (viz dále)

Značení antigenu se provádí:

- * enzymem EMIT
- * geneticky upraveným enzymem CEDIA
- * radioizotopem RIA
- * fluorescenční látkou FIA
- * chemiluminiscenční látkou LIA

Chromatografické metody

Chromatografie je metoda sloužící k separaci, izolaci a identifikaci chemických sloučenin ve směsích. Princip je založený na rozdílném dělení sloučenin ve směsi mezi mobilní a stacionární fází, což je podstatou separace látek ve chromatografii.

Analyzované látky jsou separovány jedna od druhé díky jejich rozdílné distribuci mezi 2 nemísitelnými fázemi (mobilní a stacionární).

Mobilní fáze se pohybuje v chromatografickém systému. Může být kapalná (= kapalinová chromatografie) nebo plynná (= plynová chromatografie).

Stacionární fáze se nepohybuje v chromatografickém systému. Může být tvořena pevnou látkou nebo ve formě tenkého filmu kapaliny fixovaného k podpůrnému materiálu.

Název chromatografie pochází z řečtiny (chromos=barva) podle rozdělení směsí barev na jednotlivé složky. Směs zkoumaných látek je unášena mobilní fází a přitom jednotlivé složky zkoumané směsi navazují přechodné vazby se stacionární fází. Podle povahy vazeb jsou jednotlivé složky směsi unášeny mobilní fází různou rychlostí (stacionární fáze jednotlivé složky různě intenzivně „brzdí“) a dochází tedy k rozdělení směsi. Rychlost pohybu jednotlivých látek je do určité míry charakteristická a proto je možné látky tímto způsobem identifikovat.

Základem pro kvalitní provedení analýzy pomocí chromatografie je dobře upravený vzorek.

Rozlišujeme několik typů chromatografických metod:

- a) *Chromatografie na tenké vrstvě (TLC)*
- b) *Vysokoučinná kapalinová chromatografie (HPLC)*
- c) *Plynová chromatografie (GC)*

Ad a) TLC

Stacionární fáze (nejčastěji silikagel) je nanášena v tenké vrstvě na podložní desce, mobilní fází jsou směsi rozpouštědel. Po extrakci analytů ze vzorku a provedení barevných tečkovacích reakcí je extrakt nanášen na tzv. start chromatografické desky. Deska je poté vyvíjena směsí rozpouštědel v uzavřené chromatografické komoře, kde dojde k rozdělení směsi na základě rozdílnosti distribučních konstant v dané mobilní a stacionární fází. Chromatogram se nechá tzv. vyvinout, vysuší se a pak se na jednotlivé oddělené skvrny v chromatogramu nanáší různá reakční činidla, po nichž následuje vizuální detekce (pozorování barevných odstínů). K objektivnímu zviditelnění skvrn se

používají denzitometry.⁷ Identifikace analytů je založena na extrahovatelnosti z kyselého nebo zásaditého prostředí, na chromatografickém chování se standardy, barevných reakcích a souboru odpovídajících si metabolitů. Předpokladem konfirmace je dostupnost referenčních standardů, se kterými se chování neznámé látky porovnává. TLC je výhodné kombinovat s dalšími metodami.

Výhodami TLC je flexibilita, nezávislost na přístrojové kapacitě, otevřenost systému a možnost detekce a identifikace velké škály analytů a jejich metabolitů. Další výhodou je možnost zpracování více vzorků najednou..

Nevýhodami je nižší citlivost (oproti imunochemickým metodám), obtížnější kvantifikace a nižší dělicí účinnost oproti plynové chromatografii.

Ad b) HPLC

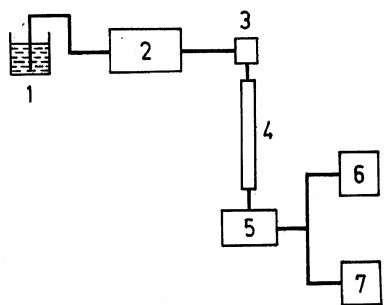
Jedná se o analogovou metodu TLC v kolonovém uspořádání. Mobilní fází je zde kapalina (směs vody a organických rozpouštědel), která se pohybuje pod tlakem. Stacionární fází jsou zde adsorbenty, měniče iontů, gely, afinitní fáze. Složení mobilní fáze může být v průběhu celé analýzy konstantní, nebo se může programově měnit, jedná se pak o tzv. *gradientovou eluci*. Gradientová eluce se používá při separaci komplikovaných směsí látek o rozdílné struktuře a tyto gradientové systémy jsou nutné pro vybudování screeningových metod.

Výhodou je vysoká účinnost a rychlost analýzy. Jako moderní analytická metoda v toxikologii je dnes využívána tandemová technika kapalinové chromatografie a hmotnostní spektrometrie (tzv. LC-MS).

Kapalinový chromatograf se skládá z těchto částí:

- zařízení pro uchovávání a transport mobilní fáze (vysokotlaké čerpadlo)
- zařízení pro dávkování vzorku
- zařízení pro separaci látek (chromatografická kolona, termostat kolony)
- zařízení pro detekci látek popř. sběrač frakcí.

⁷ Denzitometr- fotometrický přístroj k měření optické hustoty



obr. 11 blokové schéma chromatografu, 1 - zdroj mobilní fáze, 2 – čerpadlo, 3 – dávkovač, 4 - kolona, 5 - detektor, 6,7 - zařízení pro zpracování signálu detektoru

Na rozdíl od klasické kapalinové chromatografie pracuje s úzkými kolonami a průtok mobilní fáze zde probíhá pod tlakem (ne účinkem gravitace jako u klasické kapalinové chromatografie). Eluát vycházející z kolony prochází průběžně detektorem a detektor pak automaticky a kontinuálně měří některou z fyzikálních vlastností eluátu, např. absorpci ve viditelné nebo UV části spektra (spektrofotometrický detektor UV-VIS detektory), fluorescenci (fluorescenční detektory), vodivost (vodivostní detektory), apod. UV-VIS detektory jsou detektory téměř univerzální a k detekci separovaných látek se používají nejčastěji. Dalším typem mohou být detektory diodového pole, tzv. DAD. Chromatografická separace látek v koloně je provedena eluční technikou, při které systémem protéká konstantní rychlostí mobilní fáze o konstantním složení, tedy o konstantní eluční síle. Doba, kterou látka stráví v koloně, se nazývá retenční (eluční) čas.

Signál z detektoru je automaticky kvantitativně a kvalitativně vyhodnocen pomocí mikroprocesoru, který měří retenční čas, provádí integraci píků (křivek) a slouží též k programování chromatografických podmínek a k jejich kontrole v průběhu analýzy. Malý průřez kolony a malé částice náplně zajišťují vysokou dělicí schopnost této techniky. HPLC má 100 000- 1 000 000 teoretických pater tzn. úseků kde dochází k dělení) a tím lze docílit dělení velmi složitých směsí v biologickém materiálu.

Ad 3) GC

Plynová chromatografie je metoda pro dělení směsí látek o rozdílném bodu varu a rozdělovacím koeficientu. Pomocí ní můžeme dělit všechny látky, které lze zahřátím na určitou teplotu kolony převést na fázi plynnou. Stacionární fáze může být adsorbent

nebo kapalná fáze chemicky navázána na vnitřní stěnu kapilární kolony. Nejběžnější kapalnou fází jsou poly (dimetylsilikony). Mobilní fází je zde inertní plyn- dusík, helium.

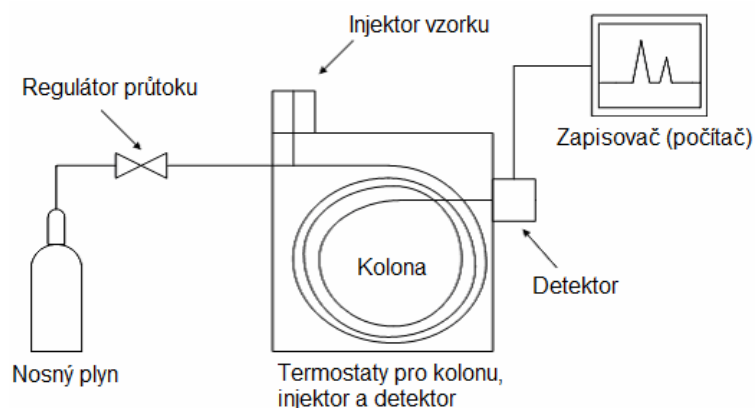
Kapalné a plynné vzorky se na kolonu (používají se např. křemenné kolony) dávkuje nastřikovacím zařízením (stříkačka s jehlou), jehlou se propíchne membrána dávkovacího prostoru kolony a objem vzorku se vytlačí do nosného plynu procházejícího kolonou. Kolony jsou u plynové chromatografie úzké a dlouhé. Tuhé vzorky se předem rozpustí v těkavých kapalinách. Pro stanovení těkavých látek lze použít tzv. *head space* metodu neboli *analýzu rovnovážné plynné fáze*. Vzorek se umístí do uzavřené skleněné lahvičky a vyhřeje se na zvolenou teplotu. Těkavé látky přejdou do plynné fáze a oddělí se tím od matrice z biologického materiálu. Podíl plynné fáze se buď automaticky nebo stříkačkou dávkuje do kolony.

Po zplynění vzorku ve vyhřívaném dávkovači jsou páry dělených složek unášeny nosným plynem do vyhřívané kolony, pak prochází kolonou, kde dochází k jejich dělení podle materiálu náplně kolony. Separace analytů ve směsi je ovládána polaritou stacionární fáze, vlastnostmi analytů, průtokovou rychlostí nosného plynu a pracovní teplotou. Rozdělené složky opouští kolonu a prochází detektorem, který je napojen na zapisovač.

Plynové chromatografy v toxikologických laboratořích bývají vybaveny různými detektory, určenými k různým typům analýz:

- tepelně vodivostní detektor (TCD- thermal conductivity detektor)
- plamenový ionizační detektor (FID- flame ionization detektor)
- dusíkový detektor (NPD- nitrogen phosphorus detektor)
- detektor elektronového záchytu (ECD- electron capture detektor)

NPD detektor selektivně detekuje látky, které ve své molekule obsahují dusík či fosfor a díky své zvýšené citlivosti vůči látkám s dusíkem je tento detektor vhodný pro screening většiny drog (i léčiv).



Obr.12 Schématické uspořádání plynového chromatografu

Za další typ specifické detekce můžeme považovat tandemové uspořádání plynového chromatografu s hmotnostním spektrometrem (GC-MS).

Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie (MS) je fyzikálně-chemická metoda, která určuje hmotnosti atomů, molekul a molekulových fragmentů po jejich převedení na ionty.

Ionty produkované v iontovém zdroji přístroje jsou akcelerovány, a pak separovány v analyzátoru a následně detekovány v detektoru. Veškeré tyto procesy probíhají v uzavřeném prostoru, ve kterém je systémem pump udržováno vakuum 10^{-3} Pa až 10^{-6} Pa.

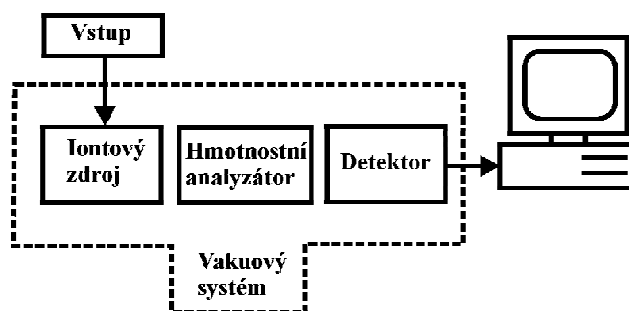
Základním požadavkem je, aby analyt byl schopen zplynění při teplotách pod bodem jeho rozkladu.

Těžištěm analytického využití je především stopová analýza organických látek s důrazem na zjištění jejich chemické struktury a tedy chemické identity.

Základní procesy v hmotnostním spektrometru můžeme shrnout do 5 etap:

1. Přívod vzorku a jeho případné zplynění
2. Ionizace molekul
3. Separace vzniklých iontů podle hmotnostní škály
4. Detekce vzniklých iontů a měření jejich četnosti
5. Registrace vzniklých spekter počítačem

Přítomnost vakua ve hmotnostním spektrometru je z důvodu zabránění rekombinace vzniklých iontů a tím i maximalizování počtu iontů dopadajících na detektor. Přívod vzorků může být realizován přímým vstupem, tzv. Direct Insertion Probe (DIP) nebo připojením dělicí kapiláry či kolony chromatografu k hmotnostnímu spektrometru. Vznikají tak systémy označované jako tandemové systémy GC- MS nebo LC-MS.



Obr. 13 Schéma hmotnostního spektrometru

Jednotlivé části hmotnostního spektrometru můžeme popsat takto:

Iontový zdroj - převedení analytu do ionizovaného stavu, fragmentace.

Hmotnostní analyzátor rozděluje v prostoru nebo čase směs iontů o různých poměrech hmotnosti ku náboji (m/z), produkovanou v iontovém zdroji.

Detektor poskytuje analogový signál úměrný počtu dopadajících iontů.

Po digitalizaci převeden do počítače a zpracován do hmotnostních spekter.

Hmotnostní spektrometr pracuje za velmi nízkých tlaků - *výkonný vakuový čerpací systém*.

Vstup umožňující převedení vzorku do iontového zdroje.

Tandemové systémy

A) GC-MS - Gas Chromatography MS

- rozdělení těkavých látek v plynovém chrom. a identifikace podle hmotnosti

B) LC-MS - Liquid Chromatography MS

- oddělení nestabilních látek v HPLC koloně a identifikace podle hmotnosti

C) MS-MS - Tandem Mass Spectrometry

- oddělení složek v magnetickém poli a identifikace podle hmotnosti

A) GC-MS systémy

Rychlost průtoku nosného plynu kapilárami pro GC (asi 1 ml / min) je slučitelná s požadavky na zachování vakua a kapiláry mohou být přímo zasunuty do vstupu iontového zdroje. U běžné kapalinové chromatografie je nutné složitější řešení ve formě přechodníku pro oddělení mobilní fáze od analytu. Ve hmotnostním spektrometru je vlastní analýza iontů závislá na konstrukčním řešení a řízena je odlišnými fyzikálními principy.

Hmotnostní spektrum je čárový graf, kde výška každé čáry představuje relativní četnost iontů příslušné efektivní hmoty.

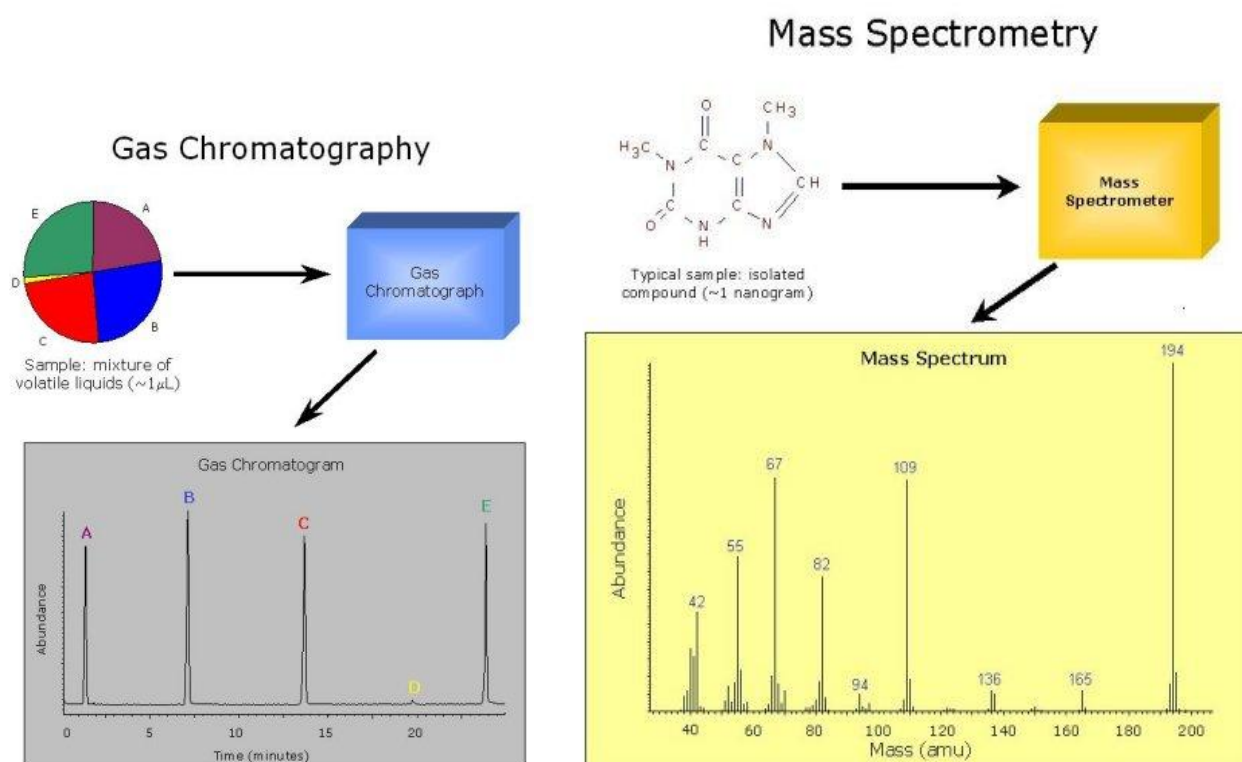
Způsob a schopnost ionizace molekuly analytu souvisí se stabilitou vazeb v molekulární struktuře. Nejrozšířenějším typem ionizace organických molekul je nárazem elektronů (tzv. elektron impact, EI) , u kterého je výsledné spektrum reprodukovatelné a je charakteristické pro chemickou identitu látky. Dalším typem ionizace je ionizace chemická, při které získaná spektra poskytují další užitečné informace o struktuře analytu a mohou pomoci k určení analytu.

Hmotnostní spektra jsou reprodukovatelná (zejména při režimu EI), což je důležité pro vytváření rozsáhlých referenčních knihoven spekter. Tyto knihovny pomocí speciálních počítačových programů slouží k porovnávání spekter standardů a analyzovaných látek.

Hmotnostní spektra látek můžeme identifikovat ve dvou režimech a to v režimu SCAN a režimu SIM. Režim SCAN se využívá tehdy, zaznamenáváme-li spektra vytvořených iontů v určitém zvoleném rozmezí efektivních hmot a získáváme plné hmotnostní spektrum analytu. Režim SIM (Selected Ion Monitoring) je výhodný v cílených konfirmačních anebo kvantitativních analýzách zaměřených na specifikovanou látku. Jedná se o monitorování jen několika iontů, ale ve větších kvantech během chromatografického píku a má za následek vyšší citlivost .

Při vyhledávání neznámých nox zvolíme scanovací režim a spektra neznámých látek porovnáváme s referenčními knihovnami. GC-MS metoda je metoda specifická, citlivá a dnes již standardně používaná. Výhodou je dostupnost rozsáhlých spektrálních

knihoven. GC- MS analýza má samozřejmě i některé nedostatky, které mohou mít velký význam na výsledky analýzy. Nedostatky výsledků mohou souviset s nedostatečnou zkušeností operátora. Nedostatečně kontrolovaný a eliminovaný přenos analytu zadržovaného na koloně do následného vzorku v sérii může způsobit falešně pozitivní výsledky (tento efekt je označován jako carry over effect). Dále může docházet k chybné nabídce knihoven v případě, když je koncentrace analytu nízká a je poblíž limitu detekce. Dalším problémem může být neformovatelnost spekter, ke které dochází v případě, je-li množství analytu příliš vysoké- spektrum je přehlčené. Některé látky (např. amfetamin) poskytují EI spektra s dominantním zastoupením fragmentových iontů o malé hmotnosti a tato spektra jsou tedy nespecifická.



B)LC- MS

Tato metoda je technicky náročnější než GC-MS z důvodu nekompatibilitosti kapalinového chromatografu s vakuem hmotnostního spektrometru. Tento nedostatek byl vyřešen přechodníky, které oddělují mobilní fázi a zavádějí analyty do systému MS.

Dnes nejčastěji používaným přechodníkem je API. Jedná se o ionizaci za atmosférického tlaku (API- atmospheric pressure ionization). Při jeho použití dochází k oddělení analytu od solventu, ionizaci molekul analytu a udržení vakua v detektoru spektrometru. Komerčně dostupné jsou dva typy API- Electrospray Ionization (ESI) a Atmospheric Pressure Chemical Ionization (APCI).

Metody LC-MS jsou považovány jako vhodný doplněk GC-MS metod k doplnění screeningu, ale i ke kvantifikaci speciálních tox. Jejich nevýhodou je finanční zátěž a nemožnost tvorby univerzálních knihoven a to proto, že reprodukovatelnost spekter ze systému ESI a APCI je přístrojově závislá.

1.10 Toxikologická analýza vzorku biologického materiálu na přítomnost drog

Při analýze vzorku na přítomnost drog se provádí nejdříve imunochemický screening, při kterém se vytřídí pozitivní a negativní vzorky. U pozitivních vzorků následuje confirmace a jednoznačná identifikace drogy metodami založenými na jiném principu- metody chromatografické. Protože imunochemická vyšetření zahrnují jen omezený počet látek, musí být v některých případech (GHB - „tekutá extáze“, durman - atropin) použity chromatografické metody i pro screening.

Pro úspěšný výsledek analýzy je velmi důležitá volba správného materiálu a jeho dostatečné množství (50 ml moče, 10 ml krve). Vhodným materiálem je moč. Imunochemické metody pro screening drog jsou vyráběny pro moč (pro krevní sérum existují pouze pro barbituráty a benzodiazepiny).

Někdy jsou prováděny úpravy postupu, aby bylo možné sety připravené pro moč použít i pro krev. V těchto případech je nutné výsledky hodnotit zvlášť obezřetně a snížit limit detekce. Krev je vhodná pouze pro cílenou analýzu na předem známou drogu a pro stanovení její hladiny. Při tomto typu analýzy je nutné použít chromatografické metody. Vyšetření na přítomnost drogy je možné provést i ve smolce

novorozenců, vlasech a slinách. Tato vyšetření však nepatří mezi každodenní rutinu, jsou časově náročná a jsou požadována specializovanými zařízeními. V současné době je věnována velká pozornost analýze slin. Této analýze je věnována pozornost ze strany policie z důvodu průkazu drog u řidičů.

Časové limity pro detekci drog v jednotlivých typech materiálů jsou různé. Výsledek je ovlivněn velikostí dávky, způsobem aplikace a konkrétní látkou. Analýza vlasů a smolky ukazuje historii užívání drog, analýza slin má zachytit přítomnost farmakologicky aktivní drogy v době testování. Byla nalezena výrazná korelace mezi koncentrací látky ve slinách a fyziologickým účinkem a vlivem na chování.

Imunochemické metody lze provádět přímo ve vzorku biologického materiálu, odpadá tedy časově náročná izolace, jako je tomu u jiných metod. Z toho důvodu jsou tyto metody rychlé, výsledek je znám za 15-20 minut. Další výhodou je malá spotřeba materiálu (100-300 μ l) a záchyt nízkých koncentrací (limity detekce 1-1000 ng/ml).

Pro screeningové metody jsou připravované převážně polyklonální protilátky, které zachytí celou skupinu strukturně podobných látek, jedná se tedy o metody nespecifické. Např. při screeningu na opiáty dochází nejen k záchytu morfinu, proti kterému je protilátka připravena, ale i ostatních derivátů morfinu - kodeinu, etylmorfinu (Diolan), hydrokodonu, dihydrokodeinu (Paracodin), folkodinu (Neocodin) a dalších. Imunochemické screeningové metody neumožňují přesnou identifikaci, proto je nutné každý pozitivní výsledek potvrdit a látku přítomnou ve vzorku přesně identifikovat.

Nespecifičnost imunochemických screeningových metod je charakterizována tzv. *zkříženými reakcemi*, které znamenají možnost, že protilátka bude reagovat i s jiným antigenem než s tím, proti kterému byla vyrobena. Tato vlastnost umožňuje skupinu drog zachytit, ale zároveň je i příčinou toho, že někdy s protilátkou reagují jiné látky než látky ze skupiny, pro kterou byla vyrobena. Objevují se tedy *falešně pozitivní výsledky*. V některých případech se naopak vyskytují *výsledky falešně negativní*. Falešně negativní výsledky by v případech intoxikací drogami mohly ohrozit život pacienta.

Falešně negativní výsledky mohou být způsobeny charakterem testované skupiny látek. Výskyt falešně negativních výsledků lze ovlivnit snížením limitu detekce (tzv. *hodnota cut-off*) pro rozlišení negativních a pozitivních výsledků. Z tohoto důvodu musí mít laboratoř dostatečně citlivé metody k potvrzení nízkých koncentrací zachycených látek.

Výsledek imunochemické analýzy je zobrazen jako číselný údaj, který pouze rozlišuje pozitivní a negativní vzorek, neodpovídá skutečné koncentraci drogy ve vzorku.

Pro hrubou orientaci v terénu se používají imunochemické testy na jedno použití, které jsou různými výrobci dodávány ve formě proužků či kazet pro jednu či více drog současně. Postup je velmi jednoduchý- proužek se ponoří do vzorku moče či se provede aplikace moče kapátkem do označeného bodu. Výsledek se odečítá po určité době (dáno výrobcem) podle vytvoření barevného proužku v testovací a kontrolní části soupravy. Jedinou kontrolou funkčnosti systému je objevení proužku v kontrolní části; pokud tam není, je souprava nefunkční.

Pro potvrzení pozitivních nálezů imunochemického screeningu musí být použity metody, které umožní jednoznačnou identifikaci látky přítomné ve vzorku, a to v koncentracích nižších, než ve kterých je zachytí imunochemické metody. Tyto požadavky splňují chromatografické metody- GC/ MS či tandemová hmotnostní spektrometrie (GC/MS/MS). Můžeme použít i další chromatografické metody- GC s FID nebo detektorem dusík-fosfor, kapalinovou chromatografií s UV detekcí, LC/MS či LC/MS/MS a v případech intoxikací i TLC.

]



[Zdroj: <http://www.zdravotnickenoviny.cz/scripts/detail.php?id=319032>]

1.11 POCT techniky

Jedná se o jednoduché nepřístrojové imunochemické testy připravené pro použití v místě sběru vzorku. Jako biologických vzorků se využívá moč, sliny a pot. Pomocí těchto testů se pouze určí pozitivita či negativita vzorku na základě předem určených a dohodnutých hranic positivity.

Princip testů je založen na analytických technikách:

a) Kompetitivní vazba na mikročástice

Principem těchto testů je „soutěžení“ drogy obsažené v moči a drogy navázané na mikročásticích koloidního zlata o vazbu na první protilátku, která je pro drogu specifická. Směs se pak pohybuje přes membránu obsahující imobilizovanou druhou

specifickou protilátku. Je-li droga přítomna ve vzorku v nadhraniční koncentraci, dochází pak k nedostatku první protilátky pro vazbu na mikročástice. Ty se pak naváží na druhou protilátku a vytvoří spolu barevný proužek viditelný po promytí membrány. Není-li droga přítomna (či je jí podprahové množství nutné k detekci), první protilátky je dost pro vytvoření konjugátů se všemi mikročásticemi a barevný proužek se pak netvoří. Příkladem tohoto principu je test TRIAGE (od firmy BioSite Diagnostics, San Diego, USA).

b) Homogenní mikročásticová chromatografie

V tomto případě „soutěží“ droga ve vzorku a konjugát drogy imobilizovaný na porézní membráně o omezené množství vazebných míst protilátky navázané na barevných mikročásticích. Je-li ve vzorku nadprahové množství drogy, naváže se na mikročástice a konjugát na membráně se neaktivuje. Mikročástice jsou odplaveny a není vidět zbarvení. V opačném případě se barevné mikročástice naváží na drogu na membráně a vytvoří tak barevný pruh. Příkladem je OnTrak Testcup (firma Roche Diagnostic, Branchburg, USA).

c) Kompetitivní enzymo- imunoanalýza na pevné fázi

Droga v moči „soutěží“ s konjugátem droga- enzym o omezené množství vazebných míst specifické protilátky imobilizované na membráně. Membrána je poté promyta k odstranění nenavázaného konjugátu a přidá se enzymový substrát. Zabarvení je nepřímo úměrné koncentraci ve vzorku. Příkladem je test je SyvaRapid (firma DadeBehring, Coppertino, USA).

d) Latex asistovaná imunoanalýza

V tomto případě se jedná o kompetici drogy v moči s konjugátem latexových částic o místo na protilátce. Není-li droga ve vzorku obsažena, latexové částice aglutinují protilátkou a tvoří zákal. Čím je ve vzorku obsaženo více drogy, tím je zákal slabší. Této metody využívá například Abuscreen Ontrak (Roche, Branchburg, USA).

Testy určené pro screening ze slin je dnes stále častěji využívanou metodou. Hladiny drog ve slinách odrážejí koncentraci volného podílu v krvi. Odběr se provádí volným tokem, odsátím vakuem či adsorpcí na vatový tampón. V praxi mohou nastat

určité problémy, jako je nedostatečný a nestálý objem vzorku, suchá ústa, viskozita slinných vzorků, zbytky potravy, vlivy bakterií, kontaminace ústní dutiny pasivním kouřením apod.

Další možností je stanovení hladin drog v potu. Principem metody je kompetitivní vazba na mikročástice koloidního zlata.

Při použití POCT metod je nutno přesně dodržovat předepsaný postup, zejména a objemy vzorku a předepsané časy. Nejsou-li pravidla postupu dodržována, nemusí dojít k očekávanému zabarvení a následkem toho může dojít i ke špatnému vyhodnocení testu.

Existuje řada interferencí, které mohou výsledek ovlivnit. Mezi jednu z nich patří neúmyslné ovlivnění. Falešná pozitivita může být způsobena mýdly, detergenty, konzumací jídla obsahujícího maková semínka, léčbou ibuprofenem apod. Falešnou negativitu může způsobit kyselina acetylosalicylová (Aspirin, Acylpyrin), ocet, chlorid sodný či kyselina askorbová.

Výhodami využití POCT technik je jednoduchost a rychlost testů a možnost jejich provedení je možné kdekoli.

1.12 Vlasová analýza

Vlasová analýza patří mezi novější metody, která se využívá stále častěji. Vlasová analýza se využívá například při průkazu dlouhodobého abúzu drog. Oproti jiným biologickým materiálům (moč, krev,..) umožňuje průkaz dlouhodobého zneužívání, nevýhodou však je fakt, že není možné prokázat, zda je dotčený pod vlivem drogy v době odběru vlasů.

U analýzy vlasů je nevýhodou omezené spektrum analyzovaných látek. Některé látky se ve vlasech neukládají vůbec a v některých případech se ukládají jejich metabolity.

Odběr vlasů je nejlepší provádět ze zadních oblastí hlavy (označovaných jako vertex posterior) z důvodu nejnižší variability v rychlosti růstu vlasů, množství vlasů v růstové fázi je méně proměnlivé a vlasy z této části jsou méně ovlivněny věkovými faktory a faktory závislými na pohlaví.

Vlasy se odebírají co nejbližší skalpu a měli by být skladovány při pokojové teplotě v hliníkové fólii, obálce nebo plastové trubici. Velikost vzorků většinou bývá v rozmezí 50- 200 mg (pramen síly tužky).

Vlasy musejí být pro analýzu určitým způsobem připraveny. Nejprve se tzv. dekontaminují (promyjí se mycími prostředky) a poté se provede úprava vzorku. Nejprve se vlasy nastříhají (např.u sekvenční analýzy se nastříhají na segmenty o délce 1 cm) a pak se provede homogenizace, při které jsou vlasy nastříhány na segmenty o velikosti 1mm. Následuje tzv. desintegrace metanolem, alkalickým hydroxidem či kyselinou. Po rozložení je vzorek podroben některé z extrakčních metod (extrakce kapalina- kapalina nebo extrakce na pevné fázi), čímž se stanovovaná látka izoluje z vlasové matrix. Vlastní analýza se provádí pomocí GC – MS nebo LC- MS, případně HPLC- MS.

Interpretaci může komplikovat:

- nerovné odstřížení vlasů, vzájemný posun vlasů v odstříženém prameni
- nehomogenita vlasů
- vstup drog uvolňovaných z tukových tkání -např. chronický abúzus marihuany
- vstup drog do vlasu nad povrchem kůže z potu, kontaminace distální části
- částečná podélná difúze uvnitř vlasu

Vlasy, pot, sliny a mekonium řadíme mezi tzv. alternativní materiály používané v toxikologii a jejich velkou výhodou je neinvazivnost odběru vzorku, odběr vzorků nevyžaduje intimní prostředí a jelikož odběr probíhá pod dohledem, nedochází k nežádoucí manipulaci se vzorkem a jedná se tedy o autentický vzorek.

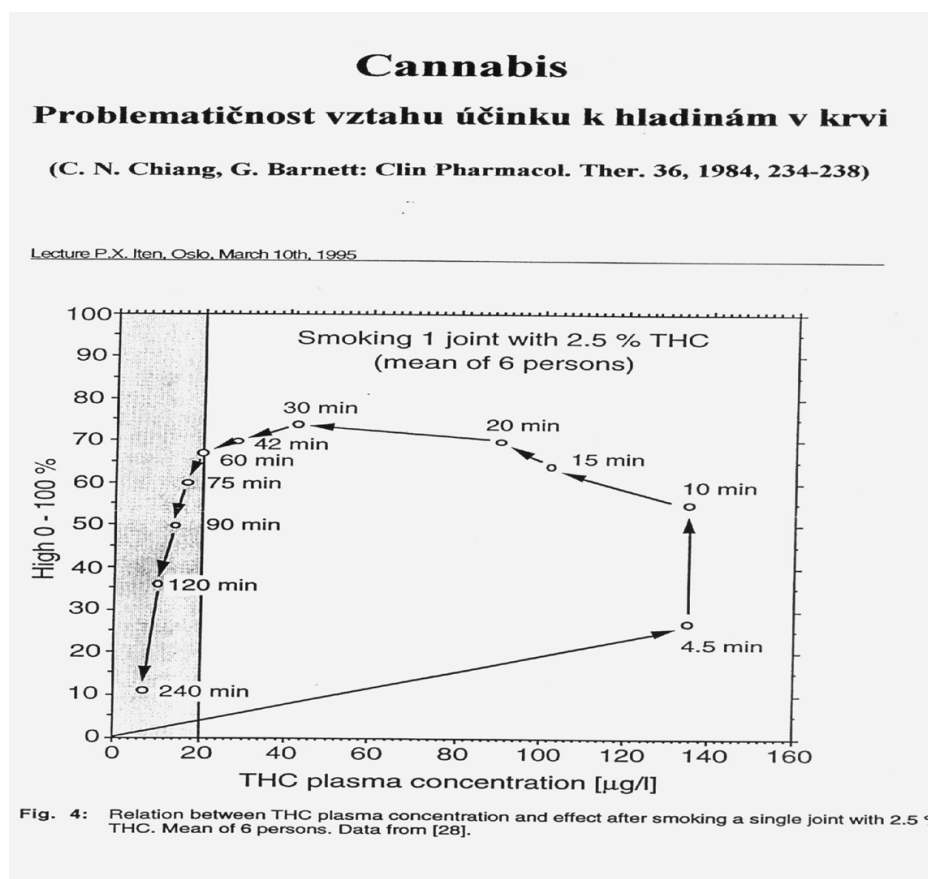
1.13 Screeningové metody u jednotlivých drog

Kanabinoidy

Akutní intoxikace kanbinoidů a stav ovlivnění se prokazuje analýzou krevního vzorku a průkazem aktivní komponenty THC, ne však průkazem inaktivních metabolitů. Přítomnost aktivního THC v krvi indikuje stav ovlivnění. Stav ovlivnění

však může trvat i poté, kdy hladina THC v krvi klesla pod detekovatelnou mez. Aktivní THC v krvi je možné prokázat pouze krátce po dávce, což po užití větší dávky a při použití velmi citlivé metody činí asi 6 hodin.

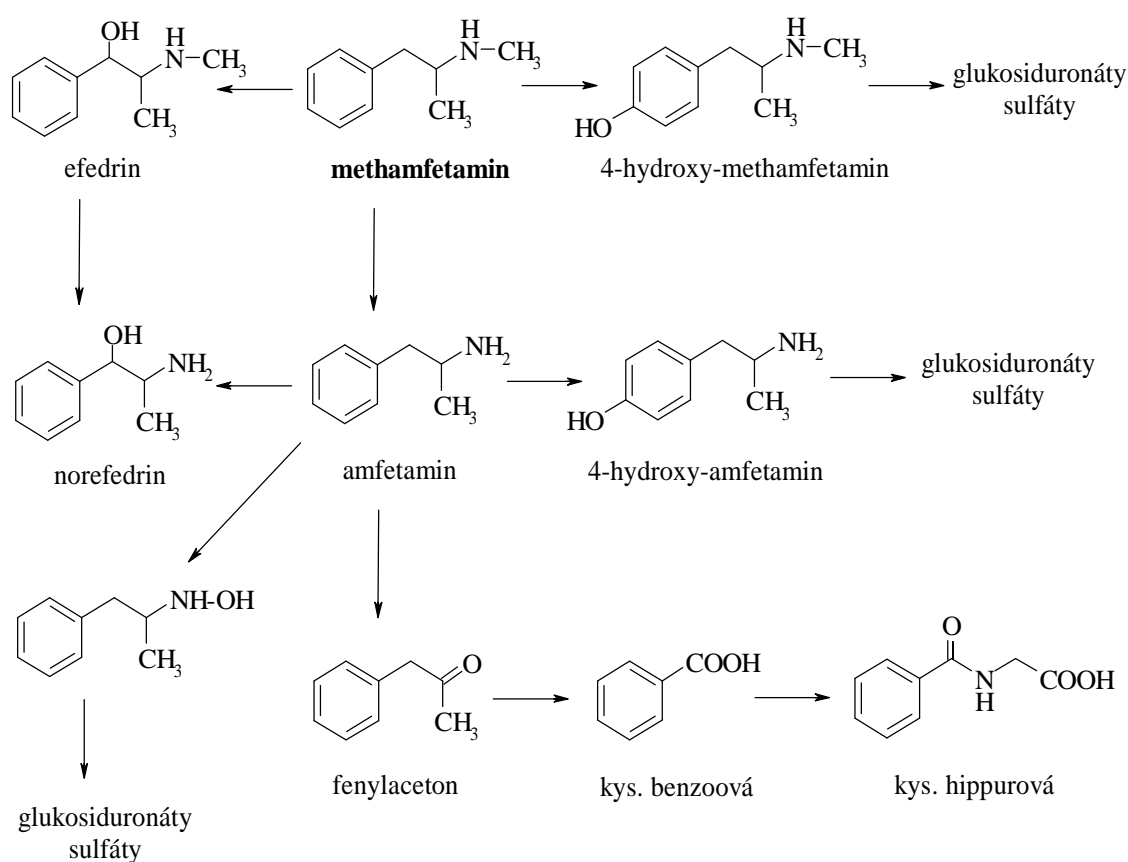
Průkaz metabolitu 11- nor- Δ^9 - tetrahydrokanabinol- karboxylové kyseliny (THC-COOH) v krvi a zejména moči je možné delší dobu. Po jednotlivé dávce lze THC- COOH prokazovat v moči asi 3 dny, při chronickém užívání po užití poslední dávky řadu týdnů. U chronických uživatelů kanabinoidů je možná detekce v moči velmi dlouho po užití poslední dávky, což je dáno tím, že kanabinoidy jsou lipofilní látky a při chronickém užívání se hromadí v tucích, odkud se postupně uvolňují. Vzorok moče je nutno ukládat ve skle při $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Použití plastových obalů a laboratorní teplota způsobují značné ztráty v obsahu kanabinoidů, což může nepříznivě ovlivnit výsledek laboratorního vyšetření. Limitem detekce pro analýzu krve u kanabinoidů jsou $2\text{ }\mu\text{g/l}$.



Amfetaminy

Metamfetamin se metabolizuje na amfetamin, který má podobné stimulační vlastnosti jako původní droga. Biotransformací vznikají další metabolity. $T_{1/2}$ je 12- 34 hodin. Toxikologický důkaz metamfetaminu a jeho metabolitu amfetaminu v krvi je možný asi do 24 hodin, v moči pak 2- 3 dny po užití poslední dávky. Vylučování těchto látek také závisí na hodnotě pH moče jedince.

Biotransformace metamfetaminu:



MDMA

MDMA se v organismu metabolizuje analogicky jako metamfetamin N-demetylací, vzniká tedy MDA. Původní formu MDMA a metabolit MDA lze v krvi prokázat po poslední dávce zhruba do 24 hodin, v moči 2- 3 dny po poslední dávce.

Heroin

Heroin (ve formě hydrochloridu) je téměř okamžitě po aplikaci v organismu přeměn na 6 – monoacetylmorfin (poločas asi 3 minuty) a dále deacetyluje na morfin (poločas asi 40 minut). Heroin je považován za transportér morfinu, který je méně polární a tudíž snadněji proniká lipofilními membránami do mozku. Toxikologický důkaz užití heroinu je dán nálezem 6 – monoacetylmorfinu, který lze prokazovat poměrně krátce (závisí na velikosti dávky, většinou to však bývá do 24 hodin), později se nachází jen morfin. Morfin může vzniknout i z jiných opiátů (kodein, etylmorfin) nebo může být jako takový aplikován např. u onkologických pacientů. Pokud se v nálezech mezi metabolity heroinu objeví kodein, není metabolitem heroinu, ale jeho původ je v rozkladu průvodní příměsi acetylkodeinu. Pro důkaz opiátů je krev vhodným materiálem pouze několik hodin po užití dávky, průkaz v moči je možný 2 – 3 dny. Toto samozřejmě závisí na velikosti dávky a na citlivosti použité metody.

Kokain

Kokain je látka poměrně labilní. Vytváří řadu metabolitů, aktivní metabolit nalézáný v krvi je norkokain. Kokain je v těle hydrolyticky štěpen za vzniku metabolitů benzoylekgoninu a methylesteru ekgoninu, které jsou prokazovány v moči. Hydrolyzou vzniká benzoylekgonin částečně také jako artefakt při zpracování biologického vzorku a také samovolným rozpadem kokainu ve skladovaném biologickém vzorku. Pro orientační záchyt kokainu a jeho metabolitů v moči existuje několik imunochemických setů. $T_{1/2}$ je 0,7- 1,5 hodiny, v moči po jednorázové dávce 3-6 hodin, při chronickém užívání je to až 5 dnů.

LSD

Chemický osud LSD v těle není dostatečně probádán. Močí se vylučuje jen nepatrný podíl (asi 1%) jako původní látka. Pro záchyt existují radioimunochemické metody. Záchyt metodou EMIT není specifický, výsledek je nutno potvrdit pomocí kapalinové chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií. Bezpečný průkaz LSD v biologickém materiálu je u nás zatím analytickým problémem.

1.14 Vliv drog na schopnost řídit motorové vozidlo

Alkohol ovlivňuje schopnost řídit motorové vozidlo i v nízkých hladinách - alkohol zvyšuje jak pravděpodobnost dopravní nehody, tak závažnost zranění při dopravních nehodách. Vliv jiných drog než alkoholu je hůře popsán vzhledem k praktickým obtížím při stanovení hladin drog v organismu a jejich ovlivnění schopnosti řídit motorové vozidlo. Přesto bylo negativní ovlivnění schopnosti řídit motorové vozidlo pod vlivem kanabinoidů, extáze, antidepresiv (zejména benzodiazepinů) a dalších drog popsáno v řadě prací.

Prevalence řízení pod vlivem konopných látek je v ČR podle dostupných informací 10x nižší ve srovnání s alkoholem, u dalších drog je výskyt ještě nižší. Výskyt řízení pod vlivem benzodiazepinů je pravděpodobně řádově stejný jako u konopných drog.

Kanabinoidy jsou nejprozkoumanější skupinou drog v oblasti vlivu na činnosti ohrožující život či zdraví, kam patří i řízení motorových vozidel. Kanabinoidy ovlivňují zručnost i styl řízení. Experimentálními studii bylo zjištěno vliv konopných drog na pozornost, paměť i koordinaci pohybů.

V posledních letech byly v rámci zvýšení bezpečnosti silničního provozu přijaty vládou a resorty dopravy a vnitra strategické dokumenty, které obsahují cíle týkající se zvýšené kontroly a prevence řízení pod vlivem alkoholu a drog. Došlo ke změně zákona o provozu na pozemních komunikacích a k novelizaci skutkových podstat přešupků a trestných činů týkajících se řízení pod vlivem návykových látek. V r. 2006 bylo Policií ČR pilotně zavedeno orientační testování řidičů na drogy, k jeho rozšíření včetně příslušných metodických pokynů by mělo dojít po vyhodnocení pilotní fáze.⁽¹⁾ Tyto testy využívané policií jsou označovány jako tzv. On road testy.

Praktický dopad intoxikace některými drogami na bezpečnost reálného silničního provozu je nedorěšen. Řada studií uvádí např. u konopných drog vykompenzování

snížené schopnosti držení střední čáry pod vlivem kanabinoidů významným snížením rychlosti a jinými mechanismy.

Screening drog na silnicích – projekt ROSITA

Zákony v mnoha zemích požadují, aby osoba byla shledána pod momentálním vlivem drogy, pokud by měla být shledána vinnou. První ROSITA projekt v letech 1999—2000 definoval kritéria kvality testů (sensitivita a specifická > 90 %, přesnost > 95 %) pro amfetaminy, benzodiazepiny a konopné látky. Protože rychlé orientační testy prováděné na silnicích by měly být pokud možno neinvazivní, projekt ROSITA-2 byl v letech 2003-2005 zaměřen na použitelnost a spolehlivost devíti rychlých testů ze slin. Na konci projektu nebyl žádný z těchto testů shledán dostatečně spolehlivým, aby mohl být doporučen pro screening drog v silničním provozu; žádný z testů nesplnil požadavky definované v projektu ROSITA-1.

Autoři projektu tedy doporučili vládám, aby pečlivě zvážily pozitiva a negativa případného zavedení rychlých testů na silnicích do doby, než budou testy zdokonaleny.

Testování ilegálních drog v silničním provozu v EU

Postupy pro vyšetření (stanovené zákonem, nařízením nebo směrnicemi) jsou v Evropě zhruba srovnatelné. První stupeň kontaktu mezi řidičem a zákonem většinou představuje policista, který určí, zda mohlo dojít k požití drogy. Z teoretického hlediska spočívá hlavní rozdíl ve vyšetřovacích postupech v právní způsobilosti policie v dané zemi provádět testy náhodně nebo pouze při podezření, i když v praxi je toto rozlišování často nejasné.

Zatímco vyšetřovací postupy zpravidla zahrnují pozorování a testy chování řidiče, po nichž následuje odebrání vzorků moči a/nebo krve, existují rozdíly, pokud jde o místo, kde se tyto testy provádějí (například na silnici, ve zdravotnickém zařízení), a osobu, která je provádí (např. dopravní policista, lékař). Několik zemí přijalo zákony, které dovolují nebo definují testování na přítomnost drog při silničních kontrolách (např. zkoušky na základě slin, potu): Itálie, Polsko, Spojené království (2003);

Slovinsko (2004); Česká republika, Lotyšsko, Rakousko (2005); Litva (2006) a Portugalsko (2007).

Přesto však projekty EU, které tyto zkoušky prováděné při silničních kontrolách posuzovaly vedly k závěru, že pro kontroly řidičů není žádný test dost spolehlivý. Návrhy zákonů v některých zemích čekají se svým schválením právě na spolehlivé testovací soupravy.

Na doplnění informační základny v oblasti řízení pod vlivem alkoholu a drog (včetně léků) a na formulaci příslušných preventivních, represivních a regulativních opatření je zaměřen mezinárodní projekt DRUID (Driving under the Influence of Drugs, Alcohol and Medicines). Zabývá se vlivem alkoholu, drog i léků na schopnost řídit motorové vozidlo a s tím spojeným vlivem na dopravní nehodovost. Projektu se účastní 37 institucí z 19 evropských zemí, včetně České republiky. Cílem tohoto projektu je dosáhnout do roku 2010 bezpečnosti v dopravě.

V mnoha zemích je pro první orientační test používán úsudek vyškoleného policisty. Postupy zhodnocení psychomotorických funkcí řidiče podezřelého z řízení pod vlivem drog byly standardizovány (Drug Recognition Expert Assessment). Po zjištění podezření na přítomnost drogy v organismu řidiče (jak po orientačním testu, tak po vyhodnocení psychomotorických funkcí policistou) musí následovat lékařské vyšetření a odběr vzorku pro vyšetření v toxikologické laboratoři.

2 Cíle práce a hypotézy

2.1 Cíle práce

Cílem práce je mapování jednotlivých metod záchytu a zejména srovnání výsledku záchytu a průkazu drogy.

Práce by měla poskytovat ucelený přehled o možnostech použití toxikologických metod používaných při screeningu a následném potvrzení jinou specifickou metodou. V praktické části budou analyzována data jednotlivých toxikologických vyšetření, prováděných v toxikologické laboratoři Oddělení klinické biochemie Nemocnice České Budějovice, a.s. za rok 2007. Soubor toxikologických vyšetření byl zaměřen na toxikologická vyšetření u účastníků dopravních nehod.

2.2 Hypotéza

Předpokladem je hypotéza, že pozitivní drogový záchyt neprokazuje sám o sobě požití drogy.

3 Metodika

Metodou výzkumu byla analýza dokumentu. Použila jsem techniku sekundární analýzy již existujících dat . Východím dokumentem byl soubor všech toxikologických vyšetření provedených toxikologickou laboratoří Nemocnice České Budějovice, a.s. v roce 2007. Celkem bylo v tomto roce provedeno 212 vyšetření.

Jelikož je v současné době aktuálním celosvětovým tématem problematika drog a jejich vliv na řízení vozidel, byla analýza zaměřena na toxikologická vyšetření provedená u účastníků dopravních nehod.

Z původního souboru, který obsahoval všechna toxikologická vyšetření provedená v roce 2007 bylo nutné vybrat pouze ta, která byla zaměřena na drogový screening i následnou confirmaci jinou metodou. Zkoumaným souborem jsou tedy toxikologická vyšetření provedená v roce 2007 u 21 účastníků dopravních nehod v Jihočeském kraji.

S pomocí záznamů toxikologické laboratoře u jednotlivých analýz jsem zjišťovala věk, pohlaví, zda byla analýza provedena u živých osob či post mortem, jaký biologický materiál byl k analýze použit, zda byla použita jen screeningová metoda či zda byl tento screening potvrzen GC- MS metodou.

Informace pro specifikaci jednotlivých analýz mi byly poskytnuty panem Ing. Josefem Gottwaldem, vedoucím laboratoře klinické farmakologie a klinické toxikologie Nemocnice České Budějovice, a.s.

Všechny screeningové analýzy byly provedeny na pracovišti klinické a soudní toxikologie na imunochemickém analyzátoru THERMO KONELAB 30i, pro confirmaci imunochemického screeningu byl použit GC- MS přístroj AGILENT 7890 A / 5975 C (číslo před lomítkem specifikuje plynový chromatograf , číslo za lomítkem značí hmotnostní spektrometr).

4 Výsledky

Z celkového počtu 212 vyšetření byl vyselektován soubor 21 vyšetření. Z těchto bylo 16 provedeno u živých osob, 5 analýz bylo provedeno u zemřelých. (Graf. č. 1). Z celkového počtu tvořily analýzy u živých osob 76,19 %, u mrtvých pak 23,81 % (Graf.č.2).

Z 21 analýz bylo v 90,48 % provedeno u mužů a 9,52 % u žen. (Graf. č. 3)

Věk osob se pohyboval v rozmezí 18 až 33 let. Průměrný věk osob byl 25 let, kdy největší část tvořili osoby ve věku 18- 24 let (47, 62 %), osoby ve věku 25- 29 let tvořili 33,33 % a nejméně byla zastoupena věková kategorie 30 – 35 let, která představovala 19,05%. (Graf č.1). Abych zjistila, jak moc se liší případy v souboru těchto zkoumaných čísel, vypočítala jsem si směrodatnou odchylku (kvadratický průměr odchylek hodnot znaku od aritmetického průměru). Směrodatná odchylka $\sigma = 4,324166128$. Toto poměrně nízké číslo značí, že věk osob si je navzájem podobný.

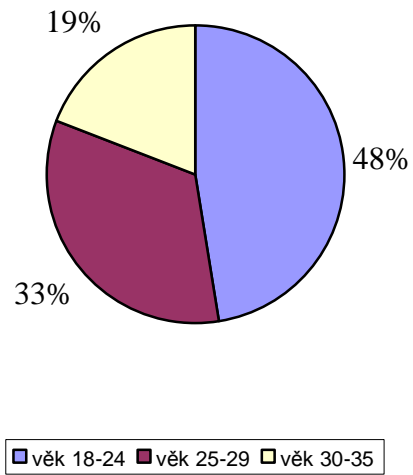
Ve vybraném souboru se jednalo o účastníky dopravních nehod, pouze v případech č. 5 a 21 se nejednalo o řidiče, ale o sražené chodce. V tabulkách č.2 a 3 jsou znázorněny jednotlivé toxikologické analýzy. Tabulka č. 2 se týká pouze vyšetření moče, tabulka č. 3 znázorňuje toxikologická vyšetření, kde byla k analýze použita krev.

Věk a pohlaví vyšetřovaných osob

	č.vyš.	č.pit.protok.	pohlaví	věk
1	5	15	M	20
2	21		Ž	18
3	23		M	21
4	38	108	M	22
5	42		M	22
6	44		M	31
7	45	120	M	28
8	53		M	22
9	66	173	M	27
10	96		M	24
11	115		M	24
12	122		M	33
13	132		M	32
14	134	325	M	31
15	136		M	20
16	144		M	25
17	165		M	29
18	167		M	21
19	179		M	27
20	195		Ž	26
21	209		M	29

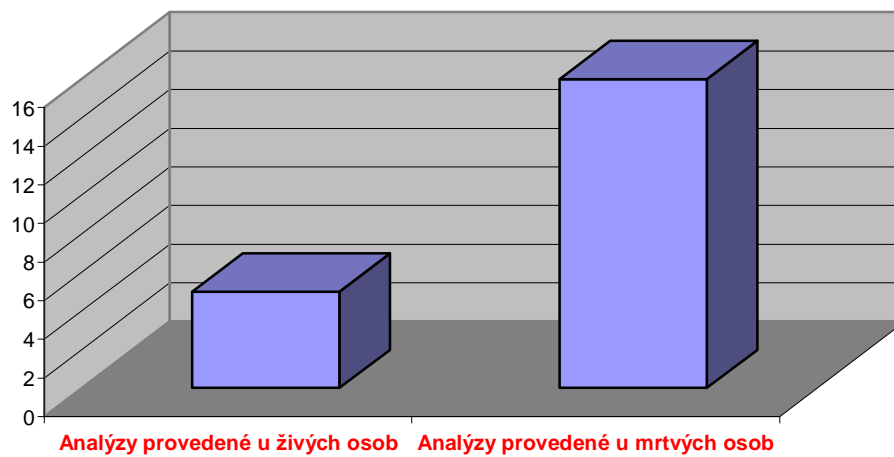
Tabulka č.1

Závislost věku u toxikologických analýz

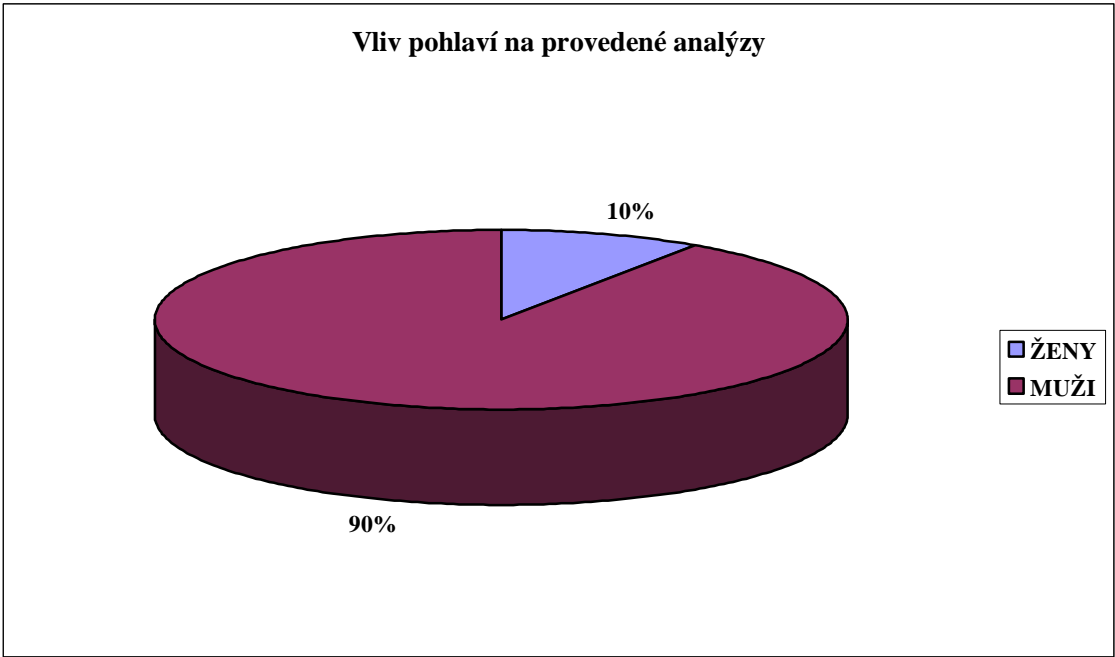


Graf č.1

Poměr analýz u živých a mrtvých osob



Graf č.2



Graf č.3

Biologický materiál použitý k analýze

pořadí	č.vyš.	analyz. biolog.mat.
1	5	moč, krev
2	21	krev
3	23	moč
4	38	moč, krev
5	42	krev
6	44	moč, krev
7	45	moč, krev
8	53	moč, krev
9	66	moč, krev
10	96	moč
11	115	moč
12	122	moč, krev
13	132	moč
14	134	krev
15	136	moč, krev
16	144	moč, krev
17	165	moč
18	167	moč
19	179	moč, krev
20	195	krev
21	209	moč, krev

Tabulka č. 2

MOČ							
pořadí	č.vyš.	CAN	AMF	MAMF	TOL	BUP	OPI
1	5	/					
2	21						
3	23	/	/				
4	38	/					
5	42						
6	44	/					
7	45	/		/			
8	53	/					
9	66	/					
10	96	/					
11	115	/	/	/			
12	122	/	/	/			
13	132	jen záchyt	jen záchyt				
14	134						
15	136	/	/	/		/	
16	144	jen záchyt.			kys..hip purová		
17	165	jen záchyt	jen záchyt				
18	167	jen záchyt	jen záchyt				
19	179	/					
20	195						
21	209		/	/			/

Tabulka č. 3

KREV							
pořadí	č.vyš.	CANAB.	AMF	MAMF	TOLUEN	BUPR.	OPI
1	5	/					
2	21	/					
3	23						
4	38	negat.					
5	42	/					
6	44	negat.					
7	45	pod limitem detekce	/	/			
8	53	negat.					
9	66	pod limitem detekce					
10	96						
11	115						
12	122	negat.	/	/			
13	132						
14	134	/					
15	136	negat.		/		/	
16	144				/		
17	165						
18	167						
19	179	/					
20	195	/	/	/			
21	209		/	/			negat.

Tabulka č. 4

5 Diskuze

Na tomto místě bych ráda objasnila jednotlivé analýzy a přiblížila zjištěné výsledky.

V případě vyšetření číslo 5 se jednalo o sraženého chodce. V moči byl přítomen THC-COOH, v séru stanovena koncentrace THC- COOH 6 µg/ l.

U vyšetření č. 21 se jednalo o chodce, k dispozici byla pouze krev, koncentrace THC v séru však byla pod limitem detekce (2 µg/ l.).

U vyšetření č.23 byla k dispozici pouze moč, kde byl stanoveno THC- COOH a MAMF. Jelikož byla k dispozici pouze moč, není možné vyvodit závěr, že byl v době deliktu po vlivem kanabinoidů a amfetaminů, ale pouze, že osoba tyto látky někdy užila.

U vyšetření č.38 byla u řidiče motocyklu byl proveden imunochemický screening moče, kde bylo nalezeno THC- COOH, konfirmace GC-MS metodou v séru byla negativní.

V případě vyšetření č. 42 bylo prokázáno GC-MS metodou THC- COOH, jeho koncentrace však byla po limitem detekce (2 µg/ l.).

U vyšetření číslo 44 bylo imunochemicky zachyceno THC- COOH, GC-MS metoda však v krvi tuto látku nepotvrdila.

U vyšetření číslo 45 bylo zachyceno v moči THC a MAMF, v séru pak potvrzen AMF a MAMF (koncentrace 500 µg/ l), dále v séru potvrzeno THC- COOH, ale nebylo možné kvantifikační stanovení, koncentrace byla pod limitem detekce (2 µg/ l.).

Při vyšetření číslo 53 bylo v moči zachyceno THC- COOH (+ Alprazolam), GC-MS metodou v séru THC nebylo zjištěno (pouze kvantifikací prokázán Alprazolam).

Při vyšetření číslo 66 bylo v moči zachyceno THC- COOH, v séru pak byly potvrzeny stopy THC, koncentrace však byla pod limitem detekce, dále potvrzena přítomnost THC- COOH.

Při vyšetření č. 96 byla k dispozici pouze moč, zachyceno i potvrzeno GC-MS metodou THC- COOH. Pouze ze vzorku moče však není možné interpretovat, že byla osoba v době odběru pod vlivem této látky.

K vyšetření č. 115 byla dodána moč i krev. Policie ČR však nepožadovala vyšetření krve, ale jen moče. V moči tedy bylo prokázáno THC-COOH, MAMF, AMF.

U vyšetření č. 122 bylo v moči zachyceno THC- COOH, AMF, MAMF. V séru pak byl potvrzen AMF A MAMF (vysoká koncentrace 973 $\mu\text{g}/\text{l}$). THC v séru neprokázáno.

Při vyšetření č. 132 byla k dispozici krev i moč, ale Policií ČR byl požadován pouze imunochemický záchyt. Byly zachyceny kanabinoidy a amfetaminy. Z tohoto stanovení však nelze interpretovat stav ovlivnění těmito látkami.

U vyšetření č. 136 byly zachyceny návykové látky i léky. V moči bylo zachyceno THC- COOH, AMF, MAMF, BUP, norbuprenorfin (Subutex), dále metabolit diazepamů a metabolit clonazepinu. V séru pak byly potvrzeny tyto látky: MAMF (koncentrace 34 $\mu\text{g}/\text{l}$), BUP (koncentrace 1,78 $\mu\text{g}/\text{l}$), diazepam (koncentrace 221 $\mu\text{g}/\text{l}$), clonazepam (koncentrace 54 $\mu\text{g}/\text{l}$). THC nebylo v séru prokázáno.

U vyšetření č. 144 byla v moči zachycena kyselina hippurová, která je metabolitem toluenu, v krvi pak potvrzena koncentrace toluenu 14,2 $\mu\text{g}/\text{l}$. Dále bylo v moči imunochemicky zachyceno THC- COOH, nebyla však požadována confirmace GC-MS metodou.

Při vyšetření č. 165 byl proveden pouze imunochemický screening, i přesto, že byl k dispozici také vzorek krve. V moči byl pozitivní záchyt AMF, THC- COOH.

Při vyšetření č. 167 byla k dispozici pouze moč. Imunochemickým screeningem byla zjištěna přítomnost amfetaminů a kanabinoidů.

K vyšetření č. 195 byla k dispozici krev, v séru bylo pozitivní THC (v koncentraci 12,2 $\mu\text{g}/\text{l}$, což odpovídá včasnému odběru biologického materiálu), dále bylo pozitivní THC- COOH, AMF A MAMF (koncentrace 488 $\mu\text{g}/\text{l}$).

U vyšetření č. 209 byla k dispozici moč i krev. V moči byly zachyceny tyto látky: AMF, MAMF, kodein, morfin, metabolity diazepamů. Po confirmaci GC- MS metodou byl v séru kvantifikován , AMF a MAMF (koncentrace 399 $\mu\text{g}/\text{l}$), diazepam (koncentrace 494 $\mu\text{g}/\text{l}$), morfin a kodein v séru nebyl prokázán.

Soubor jedenadvaceti vyšetření je příliš malý na významné statistické zpracování a tak bude sloužit spíše jako informativní materiál. Z výše uvedených výsledků jsem sestavila k jednotlivým vyšetřením závěr, zda účastník byl či nebyl v době odběru biologického materiálu pod vlivem drogy.

Dvacetiletý muž (vyšetření č. 5) byl pod vlivem kanabinoidů.

Osmnáctiletá žena (vyšetření č. 21) byla pod vlivem kanabinoidů. Nebylo však možné kvantifikovat toto množství, koncentrace byla pod limitem detekce (2 µg/ l).

U vyšetření č. 23 je možno stanovit závěr, že jedenadvacetiletý někdy užil kanabinoidy a amfetaminy.

Dvaadvacetiletý řidič motocyklu (vyšetření č. 38) v době odběru biologického materiálu nebyl pod vlivem kanabinoidů, ale dříve již tyto látky užil.

Dvaadvacetiletý muž (vyšetření č. 42) byl v době odběru pod vlivem kanabinoidů, z důvodu koncentrace pod limitem detekce však nelze stanovit přesnou koncentraci.

Jednatřicetiletý muž (vyšetření č. 44) v době odběru biologického materiálu nebyl ovlivněn návykovou látkou, někdy dříve však kanabinoidy užíval.

Osmadvacetiletý muž (vyšetření č.45) byl v době odběru pod vlivem amfetaminů, THC prokázáno, ale nebylo možné provést kvantifikaci.

Dvaadvacetiletý muž (vyšetření č. 53) nebyl v době odběru pod vlivem kanabinoidů, někdy je však minulosti užil. (V době odběru biologického materiálu byl pod vlivem benzodiazepinů- Alprazolam)

Sedmadvacetiletý muž (vyšetření číslo 66) byl v době odběru pod vlivem kanabinoidů.

Čtyřadvacetiletý muž (vyšetření č. 96) někdy užil kanabinoidy, není však možno stanovit, zda i v době odběru biologického materiálu byl pod vlivem, jelikož nebyla k analýze k dispozici krev.

Čtyřadvacetiletý muž (vyšetření č. 115) někdy užil kanabinoidy a amfetaminy ((THC- COOH, MAMF a AMF). Jelikož nebyla požadována i analýza krve, není možné

interpretovat, že byl tento muž po vlivem těchto látek i v době odběru biologického materiálu.

Třiatřicetiletý řidič (vyšetření č. 122) byl v době odběru biologického materiálu pod vlivem amfetaminů, kanabinoidy někdy dříve užíval.

Dvaatřicetiletý muž (vyšetření č. 132) byl někdy pod vlivem kanabinoidů a amfetaminů, jelikož byl proveden pouze imunochemický záchyt a nebyla provedena konfirmační metoda GC- MS, nelze z tohoto vyvodit závěr, že byl řidič v době odběru pod vlivem návykových látek.

Dvacetiletý muž (vyšetření č. 136) byl v době dopravní nehody pod vlivem amfetaminů, buprenorfinu (a benzodiazepinů). Někdy dříve užíval kanabinoidy.

Pětadvacetiletý muž (vyšetření č. 144) byl v době odběru pod vlivem toluenu, u kanabinoidů byl proveden pouze screening, což znamená, že někdy tyto látky užíval.

Devětadvacetiletý muž (vyšetření č. 165) někdy užíval amfetaminy a kanabinoidy. Nelze však interpretovat závěr, že byl pod vlivem těchto látek v době odběru, jelikož byl proveden pouze imunochemický záchyt v moči.

U jednadvacetiletého muže (vyšetření číslo 167) byl proveden pouze imunochemický záchyt v moči, lze tedy říci, že muž někdy užil amfetaminy a kanabinoidy.

Šestadvacetiletá řidička (vyšetření č. 195) byla v době odběru pod vlivem AMF, MAMF a THC.

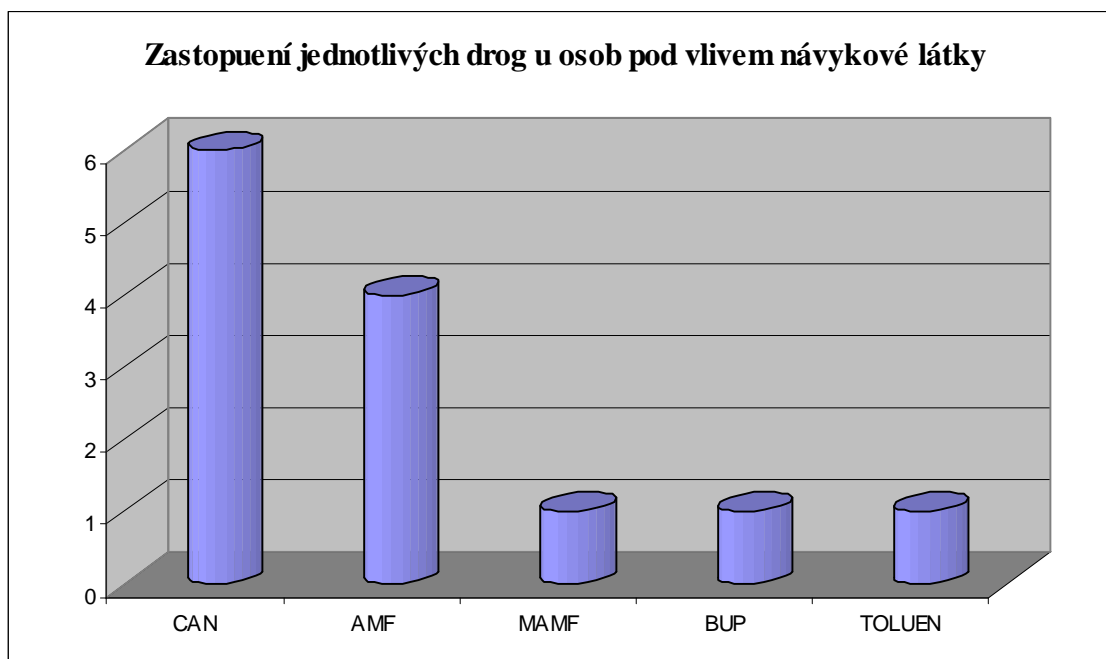
Devětadvacetiletý muž (vyšetření č.209) byl v době odběru pod vlivem amfetaminů (a benzodiazepinů).

Z výše uvedených závěrů vyplývá, že v 10 případech byli účastníci dopravních nehod ovlivněny ilegální drogou či jejím aktivním metabolitem. Nejčastěji byla prokázána přítomnost kanabinoidů. U zbývajících 11 osob nebylo možné stanovit závěr, že osoba byla v době odběru pod vlivem drogy. Ve většině případů to bylo dáno tím, že nebyl k dispozici vzorek krve a nebo nebyl Policií ČR požadován pouze záchyt bez konfirmace jinou citlivější metodou.

Z 10 osob, které byly v době odběru pod vlivem návykové látky, byly GC-MS metodou 6x prokázány kanabinoidy, 4x amfetaminy, 1x metamfetamin, 1x buprenorfin a 1x toluen.



Graf č. 4



Graf č. 5

Pro uvedení závěru, že 10 osob bylo pod vlivem návykové látky, jsem vycházela z tzv. analytického principu, podle kterého přítomnost tzv. ilegální drogy či jejích aktivních metabolitů v krvi řidiče prokazuje jeho ovlivnění touto látkou.

Základním předpokladem zdařilého toxikologického zkoumání je správná volba vhodných biologických vzorků k analýzám, a to v dostatečném množství vzhledem k řešenému úkolu v konkrétním případě. Velikost odebíraného vzorku by měla být dostatečná, aby bylo možné analýzu zopakovat. Zaměřím-li se na problematiku řízení pod vlivem návykových látek a jejich následného toxikologického stanovení, tak je podle mého názoru nezbytné, aby všichni dopravní policisté prošli kvalitním školením, kde by se dozvěděli nejen o účincích a působení jednotlivých návykových látek na řidiče, způsobu jak komunikovat s člověkem, u kterého je podezření na požití drogy před jízdou nebo během ní, ale zejména by pro úspěšnost toxikologických analýz měli dopravní policisté znát, jakým způsobem se mají odebírat vzorky biologického materiálu, jaké množství apod.

Myslím si, že vzorek biologického materiálu je jednou z nejdůležitějších částí celé analýzy a od toho se následně odvíjí interpretace výsledku. Za toxikologický průkaz, že osoba byla pod vlivem drogy, je možné považovat její přítomnost (nebo přítomnost jejího aktivního metabolitu) v krvi. Průkaz přítomnosti drogy v jiném biologickém materiálu, (např. v moči) pouze dokazuje, že daná osoba drogu užila, ale nikoli, že v době odběru tohoto biologického materiálu byla pod jejím vlivem. **Hypotéza, že pozitivní drogový záchyt neprokazuje sám o sobě požití drogy, byla tedy potvrzena.**

Dnešní toxikologické metody jsou spolehlivé, snadné, ale interpretace výsledků je ovlivněna mnoha faktory. Interpretace vychází z nálezů a z posouzení celého případu.

Dle mého názoru by bylo nejlepším řešením přijmout zákony založené na analytickém principu. Uplatnění takového zákona však vyžaduje ještě dlouhou cestu, ale už jen zapojení se do projektů typu DRUID je dobrou snahou jak toho docílit.

6 Závěr

Toxikologickou analýzu ovlivňuje mnoho faktorů. V první řadě rozhodují zkušenosti toxikologa, který na základě všech dostupných informací zvolí postup, materiál a provedení analýzy. Velmi důležitým faktorem, který ovlivní celou analýzu je typ odebraného biologického materiálu a čas odebrání vzorku. Čas odběru vzorku je důležitý znát například u THC. Zde je nutný včasný odběr krve po aplikaci (do 4 hodin) z důvodu krátké možnosti průkazu. Je tedy důležité znát biologický poločas ($T_{1/2}$) analyzované látky. Velký vliv mají samozřejmě také analytické možnosti pracoviště, jeho přístrojové vybavení a finanční možnosti.

STA se rozlišuje na:

- screeningové (vyhledávací) metody - imunochemické či chromatografické
- potvrzovací identifikační metody – chromatografické

Průkaz návykové látky je založen na kombinaci metod imunochemických, chromatografických a spektrálních. Základním principem toxikologie je potvrzování výsledků navzájem nezávislými metodami. Klinický a forenzně toxikologický standard současnosti spočívá v metodách hmotnostní spektrometrie v tandemu s plynovou nebo kapalinovou chromatografií GC-MS, LC-MS.

Myslím, že by tato práce mohla sloužit laické veřejnosti, která se zajímá o problematiku drog a také Policii ČR jako studijní materiál objasňující toxikologické metody používané při stanovení obsahu návykových látek v těle řidičů.

7 Seznam použité literatury

1. ⁽¹⁾http://zpravy.idnes.cz/policejnim-hlidakam-chybi-testery-na-drogy-fgs-domaci.asp?c=A080613_144754_domaci_pei
2. ⁽²⁾ MRAVČÍK, Viktor, *Výroční zpráva o stavu ve věcech drog v České republice v roce 2005*, Praha: Úřad vlády České republiky, Národní monitorovací středisko pro drogy a drogové závislosti, 2006, ISBN 80-86734-99-4
3. ⁽³⁾ <http://www.zdravotnickenoviny.cz/scripts/detail.php?id=137589>
4. ⁽⁴⁾ VORLOVÁ, K., MRAVČÍK, V., *Zaostřeno na drogy 2/2008, Drogy a řízení*, Praha: Úřad vlády České republiky, Národní monitorovací středisko pro drogy a drogové závislosti, 2008, ISSN 1214 -1089
5. BALÍKOVÁ, Marie, *Forenzní a klinická toxikologie, Laboratorní toxikologická vyšetření*, dotisk 1.vydání, Praha: Galén, 2007, 140str., ISBN 978-80-7262-284-9
6. BORNÍK, Miroslav, *Drogy, Co bychom o nich měli vědět*, 1.vyd., Praha, Themis, nakladatelství Tiskárny MV, p.o., 2001, 31str., ISBN 80-85821-98-2 (brožurka)

7. DOLEŽALOVÁ, V. a kol., *Laboratorní technika v klinické biochemii a toxikologii*, 4. vyd., Brno: Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví, 1995, 286 str., ISBN 80-7013-198-5
8. HORÁK, J., LINHART, I., KLUSOŇ, P., *Úvod do toxikologie a ekologie pro chemiky*, 1. vyd., Praha: Vydavatelství VŠCHT Praha, 2004. ISBN 80-7080-548-X
9. KALINA, Kamil, *Drogy a drogové závislosti 1- mezioborový přístup*, 1.vydání, Úřad vlády České Republiky, 2003, ISBN 80-86734-05-06
10. KITSON, F. G. et al. *Gas chromatography and mass spectrometry*. San Diego : Academic press INC., 1996
11. KOLEKTIV AUTORŮ (přeložil MUDr. Tomáš Zábranský), *Drogy na předpis, Lékařská preskripce narkotik*, 1..vyd., Olomouc: Votobia, 1998, str. 418, IBSN 80-7198-332-2
12. KOLEKTIV AUTORŮ (pořadatel Vorel Fr., jun.), *Soudní lékařství*, 1.vyd., Praha: Grada publishing, 1999, 606str., ISBN 80-7169-728-1
13. LÜLMAN, H. a kol: *Farmakologie a toxikologie*, 2.vydání, Praha: Grada Publishing, 2004, 696 str., ISBN 80-247-0836-1
14. MEZIREZORTNÍ PROTIDROGOVÁ KOMISE- Úřad vlády České Republiky, *Studijní skripta k distančnímu vzdělávání protidrogových koordinátorů okresních, magistrátních a statutárních měst České Republiky* (účelová publikace), 125str., Praha, 1999, náklad 20ks
15. MIOVSKÝ, Michal a kol., *Konopné drogy, Adiktologické kompendium*, 1. vyd., Praha: Grada Publishing, 2008, 544 str., ISBN 978-80-247-0865-2
16. MRAVČÍK, V., ŠKAŘUPOVÁ, K., ORLÍKOVÁ, B., *Zaostřeno na drogy 3/2008, Rekreační užívání drog*, Praha: Úřad vlády České republiky, Národní monitorovací středisko pro drogy a drogové závislosti, 2008, ISSN 1214 -1089
17. NEŠPOR, K., *Prevence trestné činnosti související s návykovými látkami*, Praha: Armer, 1998
18. NOŽINA, Miroslav, *Svět drog v Čechách*, 1.vyd., Praha: Konias Latin Press, 1997, 348 str., ISBN 80-85917-36-X

19. PÁLENÍČEK, T., KUBŮ, T., MRAVČÍK, V., *Nové syntetické drogy- charakteristika a hlavní rizika*, 1.vyd., Úřad vlády ČR, 2004, ISBN 80-86734-26-9
20. PROCHAZKA, P. *Srovnání extrakčních metod používaných při stanovení amfetaminů ve vzorcích lidských vlasů ve forenzní toxikologii*, České Budějovice: Jihočeská univerzita, Zdravotně sociální fakulta, Bakalářská práce, 2006
21. RAES, E. ; VAN DEN NESTE, T.; VERSTRAETE , A.G; **Drug use, impaired driving and traffic accidents**; Luxemburg , Office for Official Publications of the European Communities, , 196 str., 2008, ISBN 978-92-9168-318-5
22. VANĚČEK, Miloš (vedoucí redakční rady), *Butelin Národní protidrogové centrály, ročník VIII, 4/2002*, Praha: vydalo oddělení vydavatelství obchodního odboru Tiskárny MV, 57str., ISSN 1211-8834
23. VOKURKA, M., HUGO, J., *Praktický slovník medicíny*, 7.vyd., Praha: Maxdorf, 2004, 490 str., ISBN 80-7345-009-7
24. VOREL, Fr., *Toxikologie*, ZSF JU, České Budějovice, 1996, ISBN 80-7040-172-9
25. ZIMA, T., ŠTULÍK, V., *Klinická a toxikologická analýza*, Praha:VŠCHT- vydáno ve spolupráci s Českou společností chemickou, 2008, ISBN 978-80-86238-51-7
26. <http://www.adiktologie.cz>
25. <http://www.biochemie.upol.cz>
26. <http://www.biotox.cz>
27. www.blisty.cz/files/2006/11/21/vyrocní-zprava-o-stavu-ve-vecech-drog-v-cr_2005.pdf
28. <http://www.clcb.cz/okb/>
29. <http://www.cls.cz/>
30. [http:// www.drogy-info.cz](http://www.drogy-info.cz)
31. [http:// www.emcdda.eu.int](http://www.emcdda.eu.int)
32. <http://www.emcdda.europa.eu>
33. <http://www.lf1.cuni.cz-přednášky>
34. <http://www.lf2.cuni.cz/info/spol/cls/csslst>
35. <http://www.lf1.cuni.cz/Data/files/Toxikologie/Toxikologické%20analýzy-cílené%20a%20screening-VM.ppt>

36. <http://losa.no-ip.info/SPJ/index.php?page=5&menu=3>
37. <http://www.ped.muni.cz/wsedu/data/File/drogy/Luha/Legislat.pps?sid=2c724ea976c05c31833e583b2880f22>
38. <http://www.primat.cz/soubory/materialy/43/1163.ppt>
39. <http://www.zdravotnickenoviny.cz/>
40. <http://www.zdravotnickenoviny.cz/scripts/detail.php?id=319032>
41. <http://public.fnol.cz/www/urgent/seminare/20070329/TOXIK.pdf>
42. http://www.emcdda.europa.eu/attachements.cfm/att_42896_CS_summary-si-1_2007-cs.pdf
43. http://www.druid-project.eu/cln_007/nm_107534/sid_59DBFAAF99BA213C30064E2D69ED0D61/nsc_tr ue/Druid/EN/about-DRUID/about-DRUID-node.html?_nnn=true
44. <http://web.mvcr.cz/archiv2008/casopisy/policista/2006/04/volantd.html>

8 Klíčová slova a použité zkratky

Klíčová slova

Droga

Hmotnostní spektrometrie

Imunochemický screening

Chromatografie

Metoda GC – MS

Toxikologická analýza

Použité zkratky

CAN.....kanabinoidy

THC-COOH.....11- nor- Δ^9 - tetrahydrokanabinol- karboxylové kyseliny

AMF.....amfetamin, amfetaminy

MAMF.....metamfetamin

BUP.....buprenorfin

OPI.....opiáty

Příloha č. 1: Trestné činy související s drogovou problematikou - aktuální znění vybraných ustanovení trestního zákona.

V textu jsou uvedena aktuální znění ustanovení § 187 až 188a zákona č. 140/1961 Sb., trestního zákona, které jsou označovány jako tzv. drogové trestné činy. Týkají se tedy různých způsobů nedovoleného zacházení s omamnými a psychotropními látkami, včetně držení těchto látek pro vlastní potřebu, a dále šíření toxikomanie. Citované znění je platné ke dni 10.03.2008

Nedovolená výroba a držení omamných a psychotropních látek a jedů

§ 187

(1) Kdo neoprávněně vyrobí, doveze, vyveze, proveze, nabízí, zprostředkuje, prodá nebo jinak jinému opatří nebo pro jiného přechovává omamnou nebo psychotropní látku, přípravek obsahující omamnou nebo psychotropní látku, prekursor nebo jed, bude potrestán odnětím svobody na jeden rok až pět let.

(2) Odnětím svobody na dvě léta až deset let bude pachatel potrestán,

- a) spáchá-li čin uvedený v odstavci 1 jako člen organizované skupiny, nebo ve větším rozsahu, nebo
- b) spáchá-li takový čin vůči osobě mladší než osmnáct let.

(3) Odnětím svobody na osm až dvanáct let bude pachatel potrestán,

- a) získá-li činem uvedeným v odstavci 1 značný prospěch,
- b) spáchá-li takový čin vůči osobě mladší patnácti let, nebo
- c) způsobí-li takovým činem těžkou újmu na zdraví.

(4) Odnětím svobody na deset až patnáct let bude pachatel potrestán,

- a) způsobí-li činem uvedeným v odstavci 1 těžkou újmu na zdraví více osob nebo smrt,
- b) získá-li takovým činem prospěch velkého rozsahu, nebo
- c) spáchá-li takový čin ve spojení s organizovanou skupinou působící ve více státech.

§ 187a

(1) Kdo bez povolení přechovává omamnou nebo psychotropní látku nebo jed v množství větším než malém, bude potrestán odnětím svobody až na dvě léta nebo peněžitým trestem.

(2) Odnětím svobody na jeden rok až pět let bude pachatel potrestán, spáchá-li čin uvedený v odstavci 1 ve větším rozsahu.

§ 188

(1) Kdo vyrobí, sobě nebo jinému opatří anebo přechovává předmět určený k nedovolené výrobě omamné nebo psychotropní látky, přípravku obsahujícího omamnou nebo psychotropní látku nebo jedu, bude potrestán odnětím svobody na jeden rok až pět let nebo zákazem činnosti nebo peněžitým trestem nebo propadnutím věci nebo jiné majetkové hodnoty.

(2) Odnětím svobody na dvě léta až deset let bude pachatel potrestán,

- a) spáchá-li čin uvedený v odstavci 1 ve větším rozsahu,
- b) spáchá-li takový čin vůči osobě mladší než osmnáct let, nebo
- c) získá-li takovým činem značný prospěch.

§ 188a

Šíření toxikomanie

(1) Kdo svádí jiného ke zneužívání jiné návykové látky než alkoholu nebo ho v tom podporuje anebo kdo zneužívání takové látky jinak podněcuje nebo šíří, bude potrestán odnětím svobody až na tři léta nebo zákazem činnosti nebo peněžitým trestem.

(2) Odnětím svobody na jeden rok až pět let bude pachatel potrestán,

- a) spáchá-li čin uvedený v odstavci 1 vůči osobě mladší než osmnáct let, nebo
- b) spáchá-li takový čin tiskem, filmem, rozhlasem, televizí, veřejně přístupnou počítačovou sítí nebo jiným obdobně účinným způsobem.

Příloha číslo 2: Zákon č. 200/1990 Sb., o přestupcích

Ve znění: zákona č. 376/2007 Sb. (účinnost od 5. ledna 2008)

V následujícím textu jsou vybrány pouze ty pasáže, které se týkají problematiky drog

§ 22 Přestupky proti bezpečnosti a plynulosti provozu na pozemních komunikacích

- b) řídí vozidlo nebo jede na zvířeti bezprostředně po požití alkoholického nápoje nebo po užití jiné návykové látky nebo v takové době po požití alkoholického nápoje nebo po užití jiné návykové látky, po kterou je ještě pod jejich vlivem,
- c) řídí vozidlo nebo jede na zvířeti ve stavu vylučujícím způsobilost, který si přivodil požitím alkoholického nápoje nebo užitím jiné návykové látky,
- d) se přes výzvu podle zvláštního právního předpisu^{3f)} odmítne podrobit vyšetření, zda při řízení vozidla nebo jízdě na zvířeti nebyl ovlivněn alkoholem nebo jinou návykovou látkou, ačkoliv takové vyšetření není spojeno s nebezpečím pro jeho zdraví,

§ 30 Přestupky na úseku ochrany před alkoholismem a jinými toxikomaniemi

(1) Přestupku se dopustí ten, kdo

- a) prodá, podá nebo jinak umožní požití alkoholického nápoje osobě zjevně ovlivněné alkoholickým nápojem nebo jinou návykovou látkou, osobě mladší osmnácti let, osobě, o níž lze mít pochybnost, zda splňuje podmínku věku, nebo osobě o níž ví, že bude vykonávat zaměstnání nebo jinou činnost, při níž by mohla ohrozit zdraví lidí nebo poškodit majetek,
- b) neoprávněně prodá, podá nebo jinak umožní druhé osobě škodlivé užívání jiné návykové látky než jsou omamné látky, psychotropní látky a alkohol,
- c) se nepodrobí opatření postihujícímu nadměrné požívání alkoholických nápojů nebo užívání jiných návykových látek,
- d) úmyslně vyrobí líh nebo destilát bez povolení anebo úmyslně líh nebo destilát bez povolení vyrobený přechovává nebo uvádí do oběhu,
- e) úmyslně umožňuje požívání alkoholických nápojů nebo užívání jiných návykových látek než látek omamných a psychotropních osobě mladší osmnácti let, ohrožuje-li tím její tělesný nebo mravní vývoj,
- f) umožní neoprávněně požívání omamných a psychotropních látek osobě mladší osmnácti let, nejde-li o čin přísněji trestný,
- g) požije alkoholický nápoj nebo užije jinou návykovou látku, ačkoliv ví, že bude vykonávat zaměstnání nebo jinou činnost, při níž by mohl ohrozit zdraví lidí nebo poškodit majetek,

h) po požití alkoholického nápoje nebo užití jiné návykové látky vykonává činnost uvedenou v písmenu g),

ch) ve stavu vylučujícím způsobilost, který si přivodil požitím alkoholického nápoje nebo užitím jiné návykové látky, vykonává činnost uvedenou v písmenu g),

i) odepře se podrobit vyšetření, zda není ovlivněn alkoholem nebo jinou návykovou látkou, k němuž byl vyzván podle zvláštního právního předpisu¹⁰),

j) neoprávněně přechovává v malém množství pro svoji potřebu omamnou nebo psychotropní látku

(2) Za přešupek podle odstavce 1 písm. a) až d) lze uložit pokutu do 3 000 Kč, za přešupek podle odstavce 1 písm. e) a f) pokutu do 5 000 Kč a

zákaz činnosti do 1 roku, za přešupek podle odstavce 1 písm. g) až i) pokutu od 25 000 Kč do 50 000 Kč a zákaz činnosti od 1 do 2 let a za přešupek podle odstavce 1 písm. j) pokutu do 15 000 Kč.

(3) Sankci za přešupek uvedený v odstavci 1 písm. g) až i) lze snížit pod stanovenou hranici jen tehdy, že byl prokázán dechovou zkouškou nebo lékařským vyšetřením obsah alkoholu v krvi v množství pod 0,5 promile a současně nebylo užito žádné jiné návykové látky.

Příloha č.3: Syva® RapidTest



SYVA® RapidTesty představují rychlý, jednoduchý a cenově příznivý způsob provedení orientačního záchytu (screeningu) drog a léků v moči. Tyto screeningové detekční testy jsou vhodné i do terénních podmínek mimo laboratoř. Dodávané screeningové testy zahrnují buď jednotlivě 10 různých látek (parametrů) anebo 12 jejich různých kombinací, soustřeďují- cích 2 až 9 parametrů na jedné destičce. Vnitřní kontrola, která je součástí každého SYVA RapidTestu, zajišťuje spolehlivě funkčnost testu na každé destičce. Vzorkem pro všechny testy jsou 3 kapky moče, aplikované do oválného otvoru destičky pomocí kapátka, které je součástí balení. Vyhodnocení výsledku testu se provádí okem po uplynutí 3 - 5 minut po aplikaci vzorku.

Provedení i vyhodnocení testů je velmi snadné a může jej uskutečnit i osoba bez předchozí laboratorní praxe.

Pro hlubší interpretaci významu výsledků slouží informace v příbalovém letáku příslušného testu. Výsledky jsou orientačního charakteru, jejich upřesnění či potvrzení je možné jinou nezávislou a specifickou metodou, např. GC - MS.

Pro skladování SYVA RapidTestů není potřeba chlazený prostor, požadovaná teplota je 2 - 30°C. Expirační doba je minimálně jeden rok.

Stručný návod k provedení testu:

SYVA RapidTest je jednoduchý, jednostupňový, imunochromatografický test pro rychlou kvalitativní detekci drog v lidské moči. Tyto jednoduché ruční testy představují přesný výsledek získaný během 3 - 5 minut.

Interpretace výsledků je garantována při dodržení následujícího postupu provádění:



Vyjměte test z obalu a označte ho jménem nebo identifikačním číslem pacienta.



Ponořte kapátko do plastické nádoby s močí pacienta a nasajte vzorek.



Kapátkem naneste 3 kapky vzorku moči (asi 150 μ l) do oválného otvoru na destičce. Začněte měřit čas.



Výsledek se zobrazí v horním okénku destičky za 3 - 5 minut. Vyhodnocení výsledku musí být provedeno do 10 minut.

SYVA RapidTesty jsou dodávány v balení po 25 kusech. Součástí každého balení je sada kapátek a příbalový leták, obsahující všechny důležité informace, týkající se příslušných testů.

K SYVA Rapid Testům je možné dodat " Kompletní mobilní drogovou laboratoř " - přenosný kufřík, obsahující vše potřebné pro rychlé a bezpečné odběry vzorků, okamžité znázornění výsledků testů a jejich vyhodnocení a zdokumentování kdekoli mimo laboratoř.

**NEMOCNICE ČESKÉ BUDĚJOVICE – ODDĚLENÍ KLINICKÉ BIOCHEMIE**

Boženy Němcové 54

LABORATOŘ KLINICKÉ TOXIKOLOGIE tel.: **38 787 3531, 3518**PŘÍJEM MATERIÁLU (prac. doba) tel.: **38 787 3535**SLUŽBA tel.: **38 787 3510****TOXIKOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ BIOLOGICKÉHO MATERIÁLU**

R. Č.:

Příjmení, jméno:

Oddělení:

Dg.:

ZP:

Kontakt na lékaře:

Tel.:

Na OKB došlo:

 STATIM RUTINNĚ (řádná pracovní doba)**VYŠETŘENÍ** TOXIKOLOGICKÝ SCREENING MOČE ŽALUDEČNÍHO OBSAHU DROGOVÝ SCREENING MOČE KOMPLETNÍ AMFETAMINY OPIÁTY KANABINOIDY BENZODIAZEPINY BARBITURÁTY METABOLITY KOKAINU ETHYLALKOHOL V SÉRU TOXIKOLOGICKÝ SCREENING KRVE

DALŠÍ POŽADOVANÁ VYŠETŘENÍ

.....

.....

.....

KLINICKÉ PŘÍZNAKY PŘI VĚDOMÍ SOMNOLENCE SOPOR KOMA NEVOLNOST ZVRACENÍ KŘEČE DELIRIUM

Jiné.....

P

TK

DODANÝ MATERIÁL

DATUM a ČAS ODBĚRU.....

 MOČ (minimálně 25 ml).....ml KREV (minimálně 4 ml).....ml ŽALUD. OBSAH (25 ml první porce).....ml JINÝ.....**INFORMACE**

DATUM A ČAS POŽITÍ (APLIKACE):

SUSPEKTNÍ NOXA:

ANAMNÉZA:

SOUČASNÁ MEDIKACE:

DATUM, RAZÍTKO ODDĚLENÍ, PODPIS LÉKAŘE

Příloha č.5: Informace distributora o imunochemickém analyzátoru Konelab 30i

Konelab 30i je nejvyzrálejší a trhem nejvíc vyzkoušeným produktem vývojové řady analyzátorů značky Konelab. Vychází vstříc požadavkům zákazníků středních a větších laboratoří na dostupný komfort velkých analyzátorů. Tento přístroj je v kombinaci s řídicím počítačem pracujícím pod Windows NT nebo XP dokonalým společníkem pro úspornou a efektivní práci v biochemické laboratoři. Celé ovládání včetně nápovědy je v češtině.



Analýza po pacientech rychlostí 300 testů za hodinu

36 měsíců záruka

HOT-Line 24 hodin, 7 dní v týdnu

plně otevřený systém

jednoduché ovládání v češtině pod Windows XP

excelentní analytika s použitím diskretních kyvet

minimální spotřeba reagensů, efektivní provoz

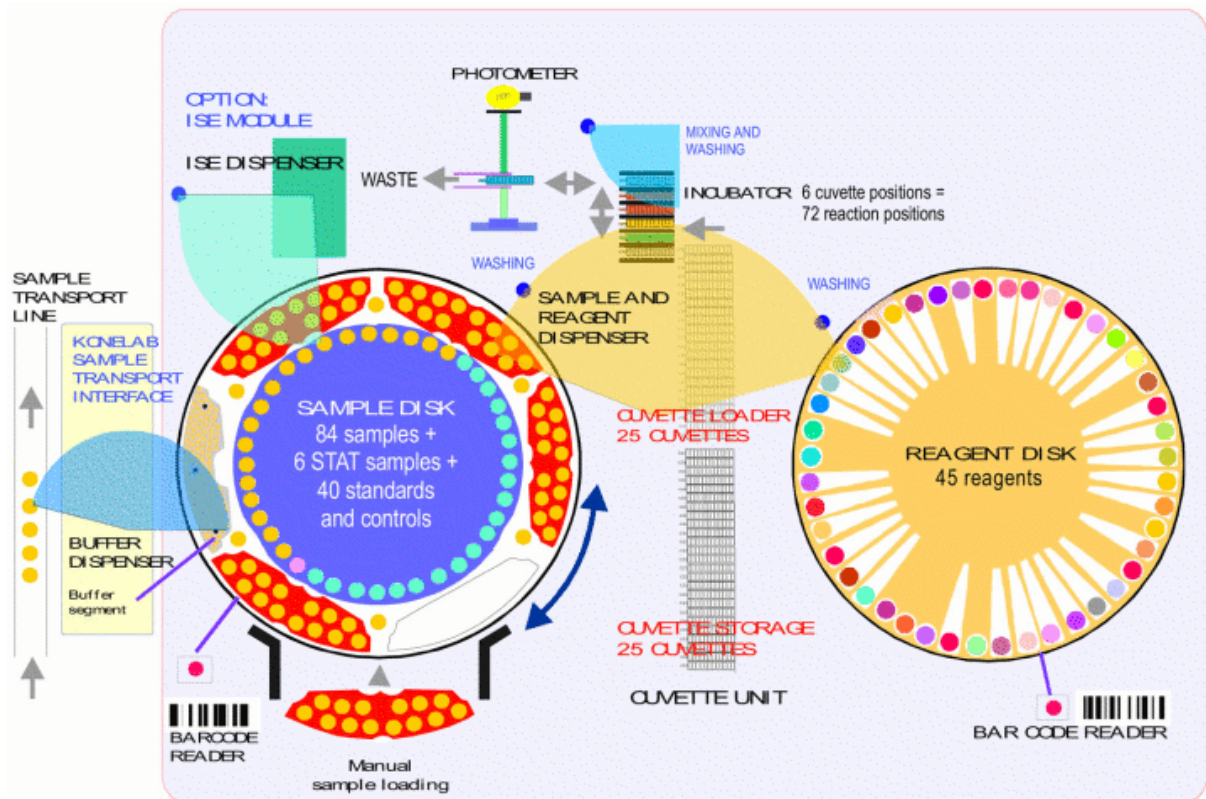
čárový kód jako standard

chlazené vzorky a reagensie na 7 stupňů Celsia

přímá ISE s nejnovějšími elektrodami s prodlouženou životností

maximální podpora společnosti VIAN Praha s.r.o. s dlouholetou zkušeností v oboru

Posouzení jednoduchosti koncepce na strukturovaném diagramu analyzátoru Konelab 30i.



Vzorky je možno kontinuálně doplňovat do segmentů, ve kterých najdou své místo jak 0,5 ml nádoby na vzorek, tak odběrové zkušavky od všech významných výrobců až do objemu 10 ml. Nezávisle na rutinní analýze si přístroj sám pipetuje materiál do jednotky ISE, která je umístěna v pipetoru. Máte volbu mezi Na, K, Cl, Li, Ca a pH. Elektrody jsou bezúdržbové s prodlouženou zárukou až na 12 měsíců.

V informacích o séru se dozvíte vše o konzistenci, možnosti opakování analýz nebo o potřebě vzorek dodatečně manuálně ředit. Prostor pro vzorky je chlazen na teplotu 12 stupňů Celsia a nabízí zvláštní pozice pro STATIMOVÉ vyšetření.

Na obrázku vlevo je vyobrazen segment pro práci s automatizovanou linkou KUSTI, dále pak normální segment na vzorky.



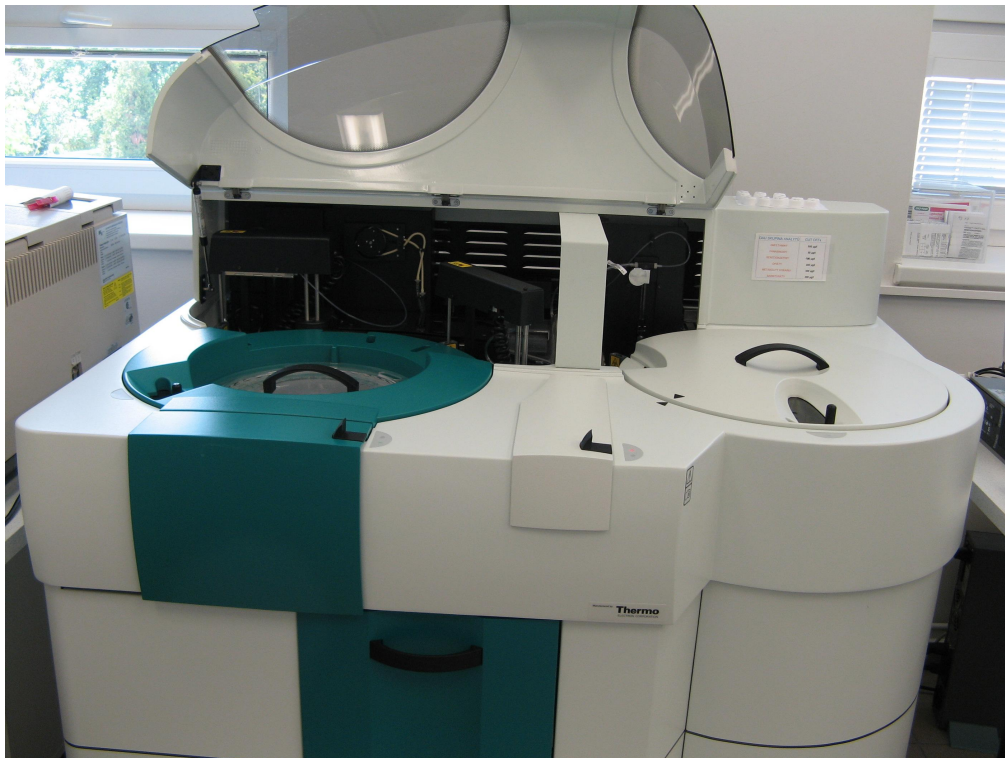
Vkládání segmentů se provádí do speciálního podavače, který zajišťuje kontinuální doplňování i odebrání segmentů bez narušení rutinní práce.



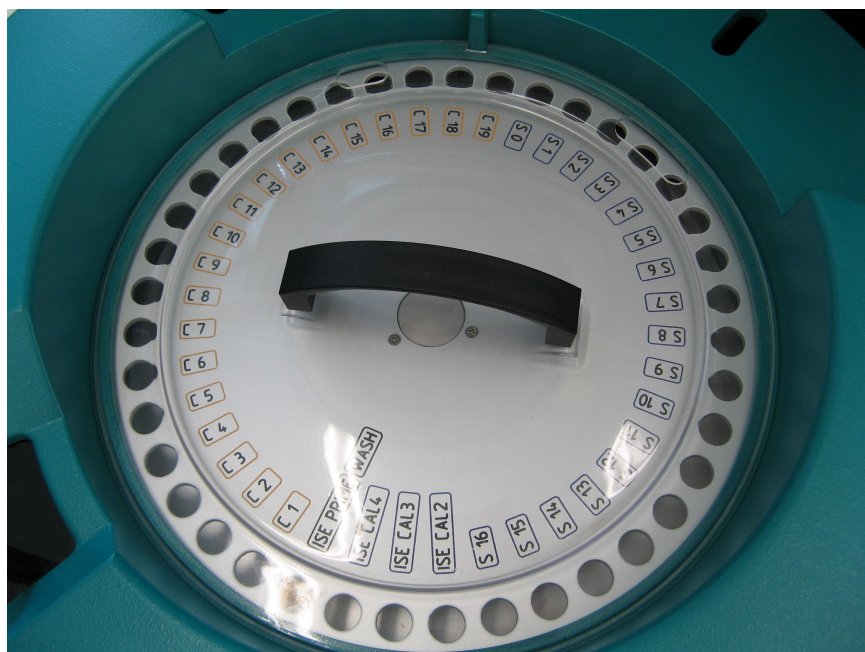
Reagencie jsou umístěny v nosiči s 45 pozicemi. Všechna místa jsou chlazená na 7 stupňů Celsia. Nádobky jsou k dispozici v originálních baleních od výrobce nebo na objednávku od naší společnosti ve velikostech: 3, 20 a 60 ml. V originálních baleních se pracuje většinou s jednočinnými diagnostiky s prodlouženou stabilitou. Otevřený systém umožňuje až 4stupňové reakce nebo umístění více nádobek s jednou reagentií do talíře. Analyzátor pak sám postupně spotřebuje jednu po druhé, bez nutnosti vašeho zásahu.

Software přístroje sleduje stáří a spotřebu činidel a upozorní Vás na nutnost jejich doplnění.

Příloha číslo 6: Fotografie



Obr. č. 16 imunochemický analyzátor THERMO KONELAB 30i



Obr. č. 16 imunochemický analyzátor THERMO KONELAB 30i



Obr. č. 17 GC- MS přístroj AGILENT 7890 A / 5975 C



Obr. č. 18 GC- MS přístroj AGILENT 7890 A / 5975 C



Obr. č. 19 Typy destičkových testů

NÁVOD K POUŽITÍ ORIENTAČNÍCH DROGOVÝCH TESTŮ DRUGWIPE® 5

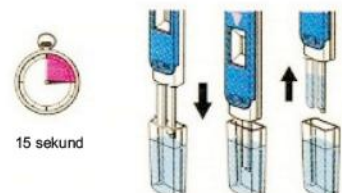
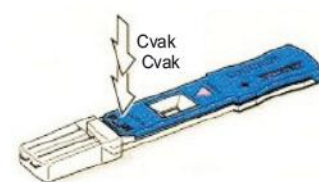
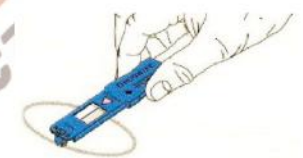
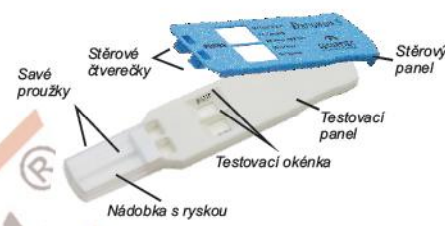


kat. č. CF1000

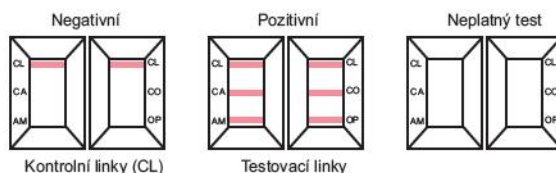
pro detekci drog ze SLIN, POTU, PŘEDMĚTŮ apod.

SECURETEC
DEFEKTIONS-SYSTEME AG

1. Před provedením testu zkontrolujte, zda není stříbrný obal poškozený. Zkontrolujte také datum spotřeby (datum expirace). Test s prošlým datem vyřadte.
2. Stříbrný obal otevřete u černého obdelníčku v místě perforace a test z obalu vyndejte. Ze stříbrného obalu sundejte ampulku s vodou. Stříbrný obal nevyhazujte, viz. poznámka dole.
3. V testovacím okénku jsou světle modré čáry, které po provedení testu zmizí.
4. Oddělte modrý stěrový panel od bílého testovacího panelu.
5. **Detekce ze slin:** požádejte testovanou osobu, aby si jazykem olízla vnitřní strany tváře. Testované osobě stěrovými čtverečky modrého stěrového panelu krouživým pohybem lehce setřete sliny z jazyka.
Detekce z potu: kápněte vodu z ampulky na stěrové čtverečky stěrového panelu, setřepte přebytečnou vodu. Několika krouživými pohyby setřete pot z místa pokrytého potem (čelo, dlaně, apod.).
Detekce z povrchů: kápněte vodu z ampulky na stěrové čtverečky stěrového panelu, setřepte přebytečnou vodu. Několika krouživými pohyby přetřete povrch zkoumaného předmětu.
6. Stěrový panel zacvakněte zpět do bílého testovacího panelu tak, abyste uslyšeli slabé zacvaknutí.
7. Z testu sundejte nádobku s rýskou. Až k rýsce naplníte nádobku vodou z přiložené ampulky. Na 15 sekund ponořte savé proužky do nádobky s vodou, která aktivuje vyvolávání testu. Test držte ve svislé poloze. Po uplynutí 15 sekund test z nádobky vyjměte. **BÍLÝ PLAST TESTOVACÍHO PANELU DO VODY NEPONOŘUJTE.**
8. Test dejte do vodorovné polohy po dobu cca 3 - 8 minut, max. 10 minut.
9. V testovacím okénku se u nápisů CL (Control Line) objeví světle růžové kontrolní linky. Pokud je testovaná osoba pod vlivem nějaké drogy, světle růžová testovací linka nebo dokonce linky se objeví v testovacím okénku v místě se zkratkou drogy. I slabě růžová, přerušovaná nebo krátká linka, nebo i pouhý růžový bod, v testovacím okénku u zkratky drogy indikuje pozitivní přítomnost drogy.



- CA - test je pozitivní na Cannabis (Marihuana)
- AM - test je pozitivní na Amfetamin, Metamfetamin/Extázi
- CO - test je pozitivní na Kokain
- OP - test je pozitivní na Opiáty
- CL - test je negativní na přítomnost drog



Pokud se v testovacím okénku u nápisů CL neobjeví žádné světle růžové kontrolní linky, test je neplatný a testování se musí zopakovat s novým testem.

Poznámka: V případě, neplatného testu, je možné u firmy LT SEZAM s.r.o., Karlovarská 378/30, 161 00 Praha 6, tento neplatný test reklamovat. Reklamacce bude přijata pouze v případě, že s testem bude zaslán i stříbrný obal od neplatného testu. Reklamovaný test bude předán na posouzení výrobci.

Používáte-li testy DRUGWIPE v nepříznivých povětrnostních podmínkách, chraňte před deštěm testovací okénko. Nikdy se nedotýkejte stěrových čtverečků. Pracovní rozsah teplot 5 - 40 °C, dlouhodobé skladování 5 - 25 °C.

KRIMI
LT-SEZAM
WWW.DROGOVETESTY.CZ

datum: 17.03.08