



1. LÉKAŘSKÁ FAKULTA
UNIVERZITY KARLOVY V PRAZE

VŠEOBECNÁ FAKULTNÍ
NEMOCNICE V PRAZE



Vybrané aspekty toxikologické a forenzní analytiky

Analýza toxikologicky relevantních alkoholů a markerů jejich požití

Radomír Čabala, Miroslava Bursová, Tomáš Hložek

Všeobecná fakultní nemocnice a 1.LF UK v Praze

Ústav soudního lékařství a toxikologie, Oddělení toxikologie

Ke Karlovu 2, Praha 2, 12808



Analýza toxikologicky relevantních alkoholů a markerů jejich požití

- Alkoholy relevantní z pohledu potenciálních intoxikací
- Stanovení methanolu, ethanolu a kyseliny mravenčí metodou headspace-GC-FID
- Pozdní markery konzumace ethanolu
- Stanovení ethylenglykolu a kyseliny glykolové metodou GC-FID
- Stanovení dalších acidózu vyvolávajících alkoholů metodou GC-MS



Alkoholy relevantní z pohledu potenciálních intoxikací

Alkohol

- Methanol →
- Ethanol →
- (Isopropanol) →
- Ethylenglykol →
- (1,3- a 1,2-propandiol) →
- Diethylenglykol →
- Ethylenglykol monomethyl éter →
(2-methoxyethanol, methyl cellosolve)
- Ethylenglykol ethyl éter →
(2-ethoxyethanol, ethyl cellosolve)

Metabolyty

Formaldehyd, **kyselina mravenčí**

Acetaldehyd, acetát

Aceton

Glykolová a šťavelová kyselina

2-OH-propionová a mléčná k.

2-hydroxyethoxyoctová kyselina

Methoxyoctová kyselina

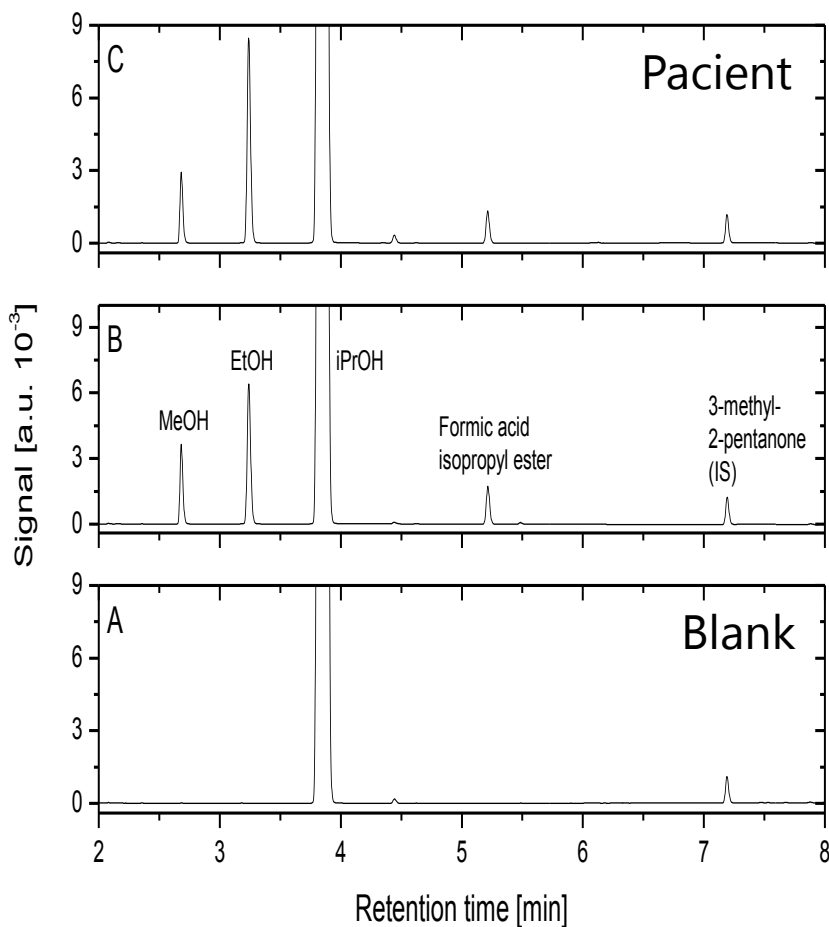
Ethoxyoctová kyselina

Akutní acidóza, selhání metabolismu

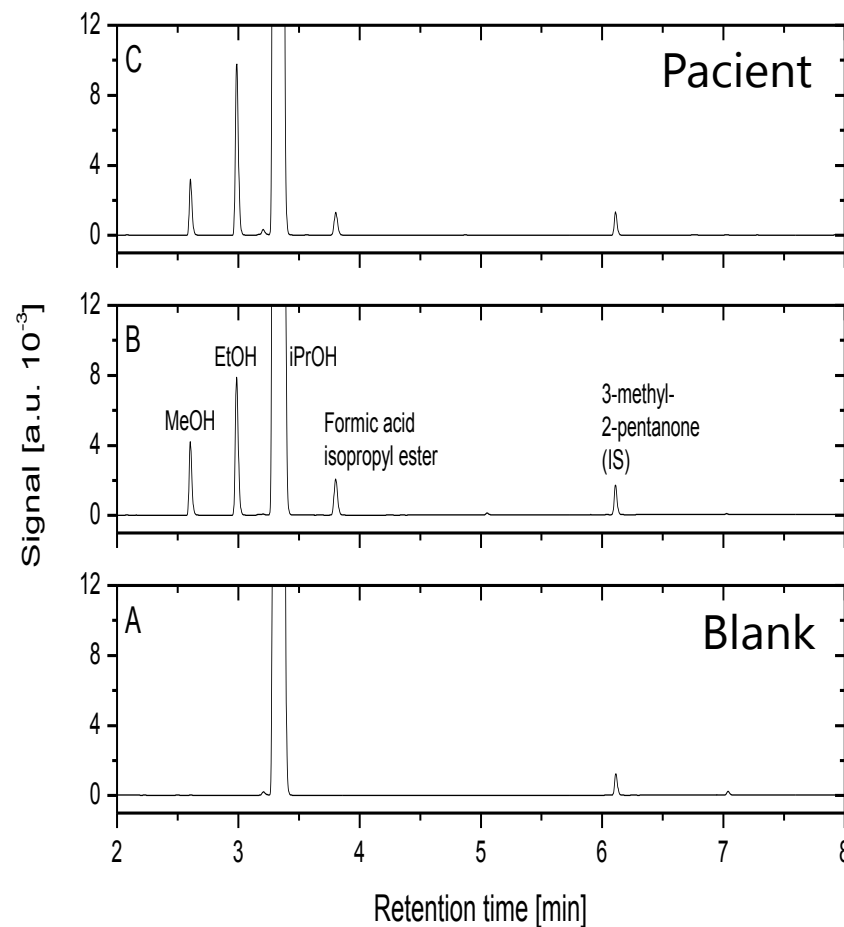


1. Stanovení methanolu, ethanolu a kyseliny mravenčí metodou headspace-GC-FID

Kolona A: RTX-BAC 1

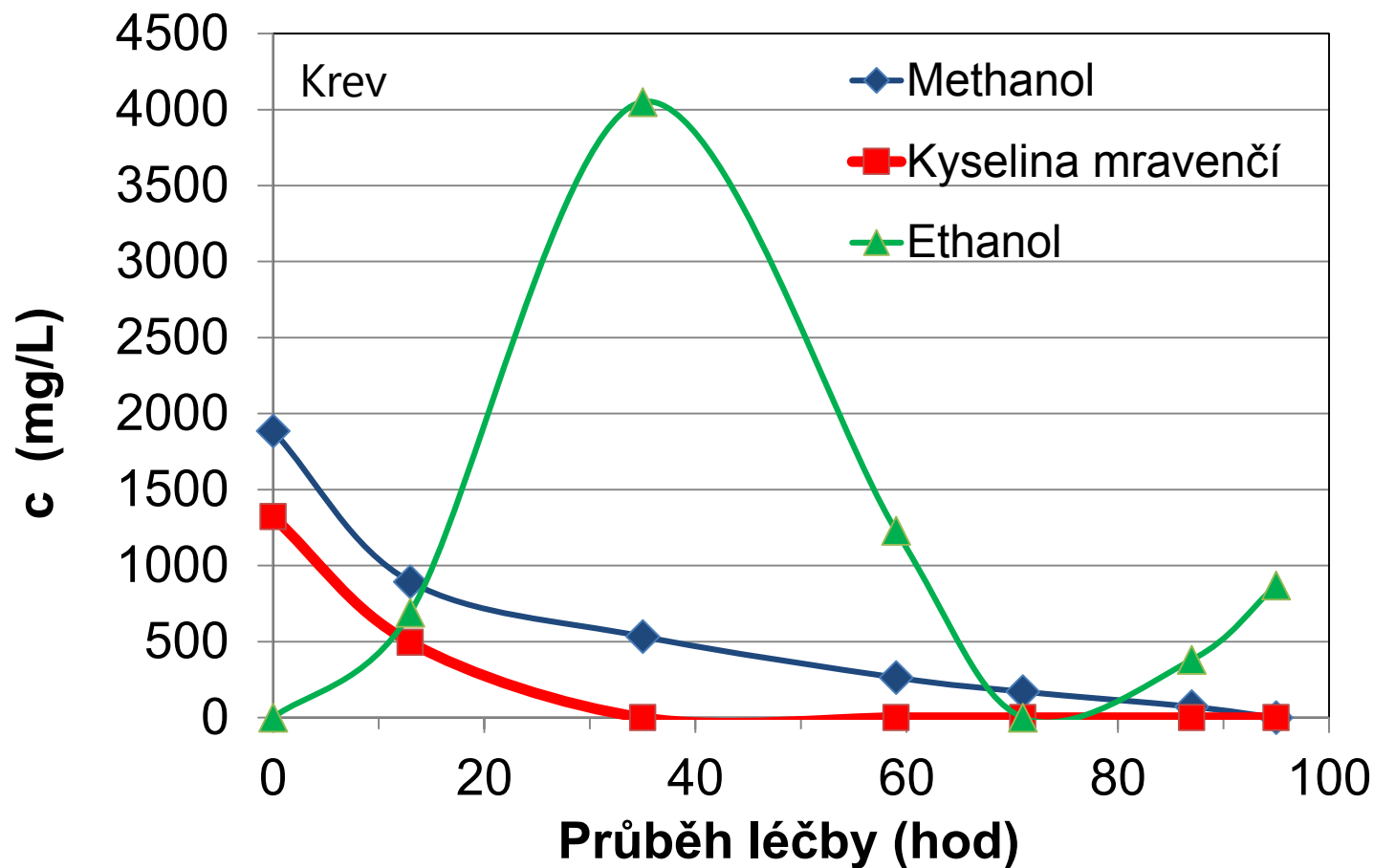


Kolona B: RTX-BAC 2 Plus





1. Stanovení methanolu, ethanolu a kyseliny mravenčí metodou headspace-GC-FID



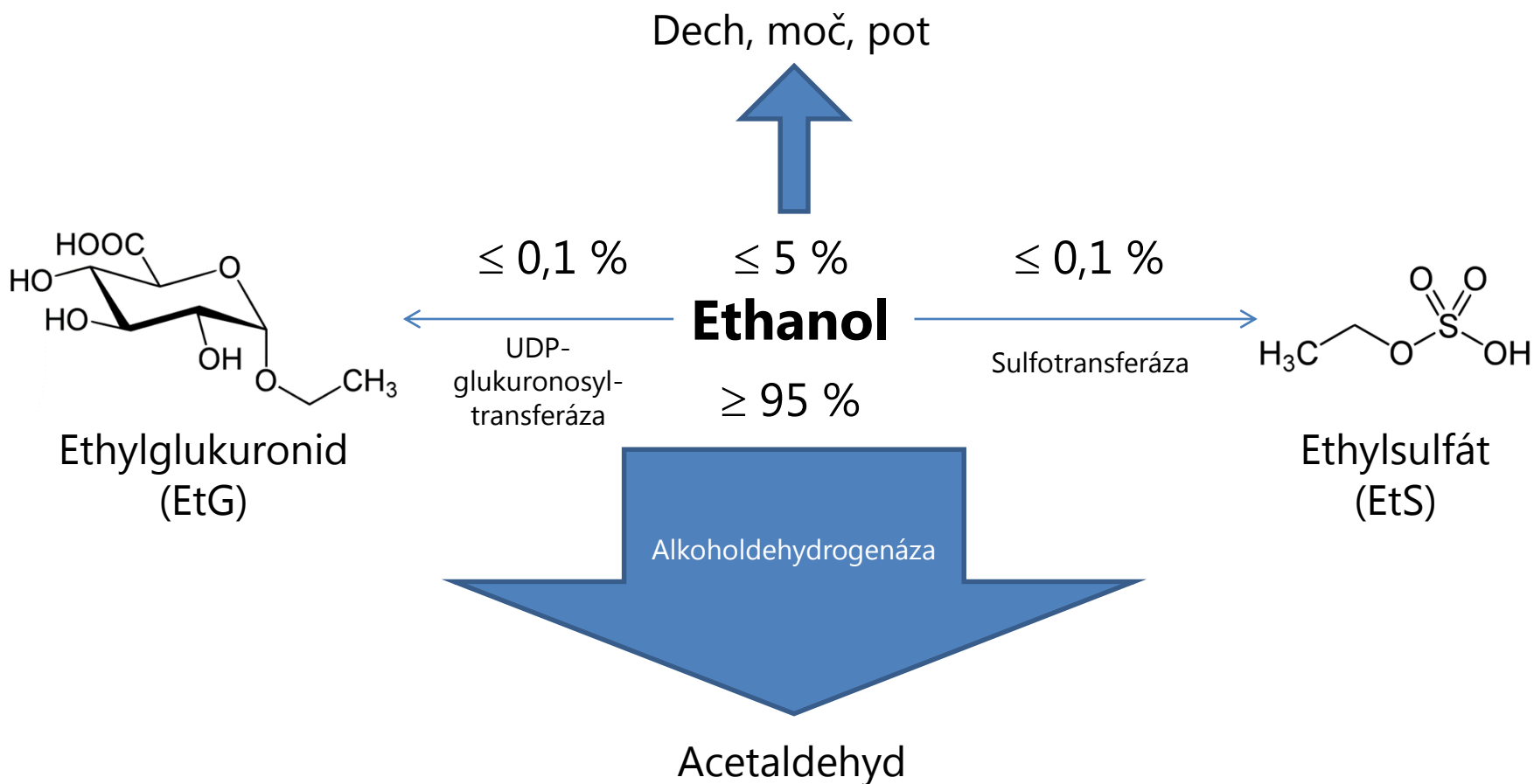


2. Pozdní markery konzumace ethanolu

Adiktologie: kontrola dodržování podmínek odvykacího procesu;
Policie: důkazní řízení; IKEM: kontrola předtransplantačního režimu

Marker	Zkratka	Typ pití	Falešná pozitivita	Detekční okno
Ethanol	EtOH	-	Potraviny	6 hod
Ethylglukuronid Ethylsulfát	EtG EtS	Nedávné	Hygienické prostředky, kosmetika, potraviny	5 dní
5-Hydroxytryptolol	5HTOL	Nedávné	Neprozkoumány	3 týdny
Karbohydrate- Deficitní Transferin	CDT	Nárazové	Fe-deficience, hormonální stav žen, karbohydrát-deficientní glykoproteinový syndrom, fulminantní žloutenka C	3 týdny
Fosfatidylethanol	PEth	Nárazové	Neprozkoumány	3 týdny
Gama-Glutamyl transferáza	GGT	Chronické / poškození orgánů	Nemoci jater a žlučníku, kouření, obezita, léky na bázi mikrozomálních enzymů	4 týdny
Aspartát & Alanin Aminotransferáza	AST & ALT	Chronické / poškození orgánů	Jako u GGT, přílišné pití kávy snižuje hodnoty	4 týdny

2. Pozdní markery konzumace ethanolu - Ethylglukuronid & Ethylsulfát

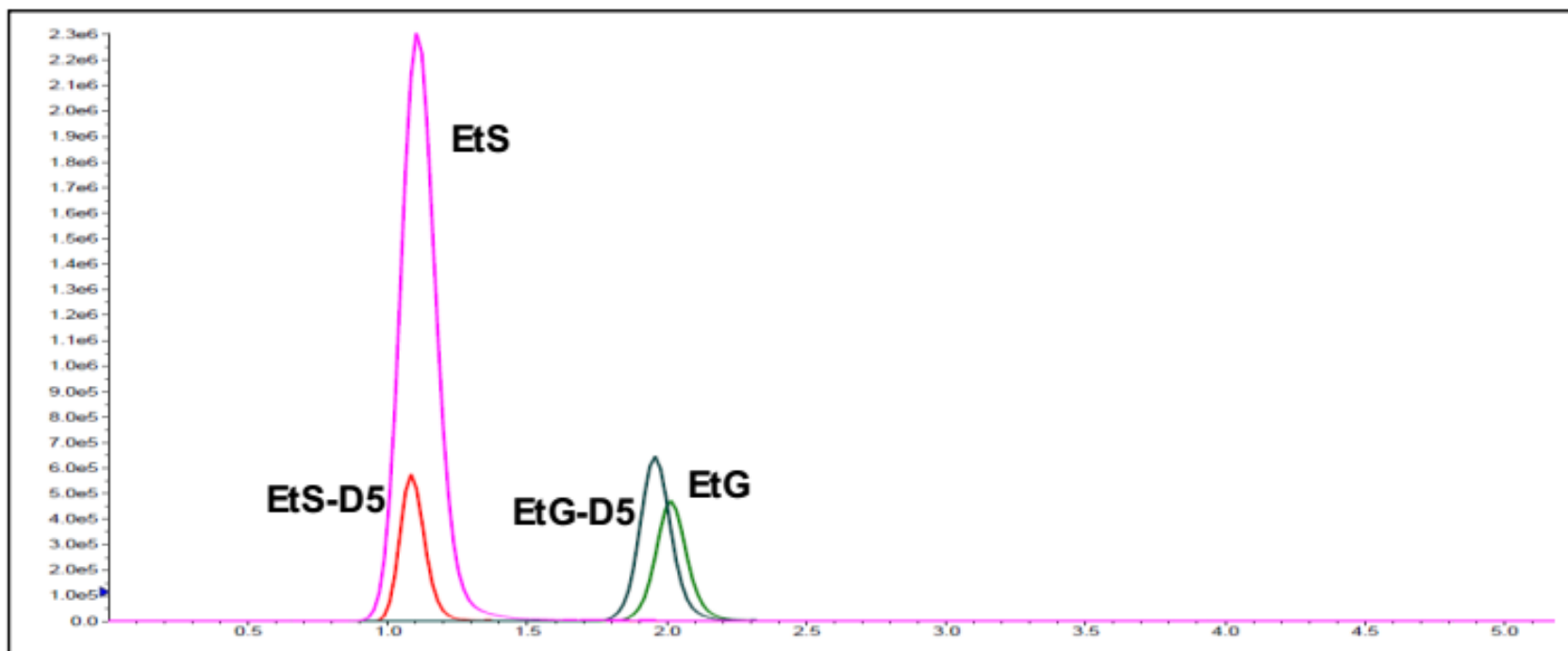


Matrice: moč, krev, vlasy, sliny

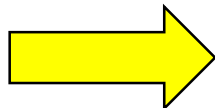
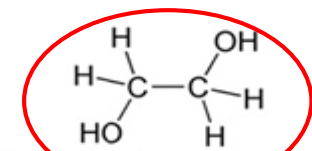
2. Pozdní markery konzumace ethanolu - Ethylglukuronid & Ethylsulfát

Dvoustupňový postup pro důkaz:

1. Screening moče – imunochemický na laboratorním analyzátoru
2. Konfirmace – UPLC-MS/MS nebo GC-MS(/MS) po derivatizaci (jen EtG)
(nutnost užití D5 standardů)

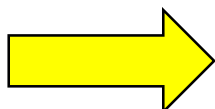
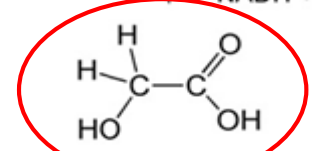
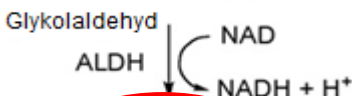
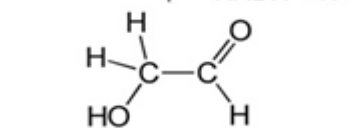
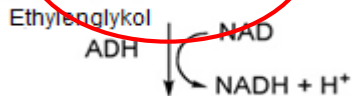


3. Stanovení ethylenglykolu a kyseliny glykolové metodou GC-FID



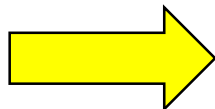
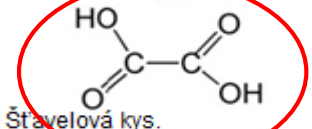
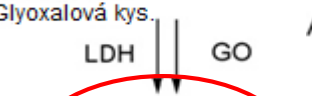
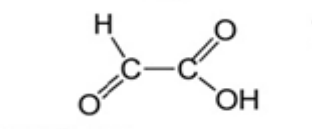
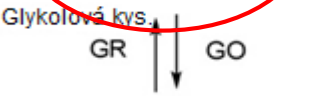
Ethylenglykol

- toxické příznaky: od **200 mg/L** v séru
- hemodialýza: od **300 mg/L** v séru
- smrtelná dávka: od **850 mg/L** v séru (100 mL pro 70 kg člověka)
- $t_{1/2} = 3$ hod



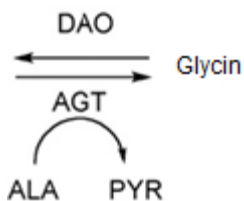
Glykolová kyselina (GK)

- hlavní toxický metabolit v séru
- způsobuje metabolickou acidózu
- lepší indikátor otravy EG
- selhávání ledvin: od **700 mg/L** v séru
- $t_{1/2} = 10$ hod



Šťavelová kyselina

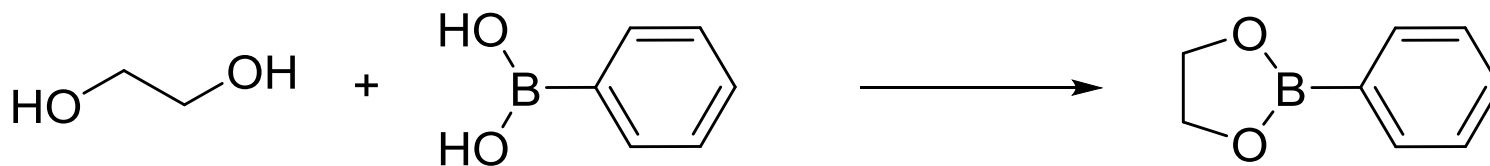
- kumulace šťavelanu v tubulech ledvin po saturaci AGT



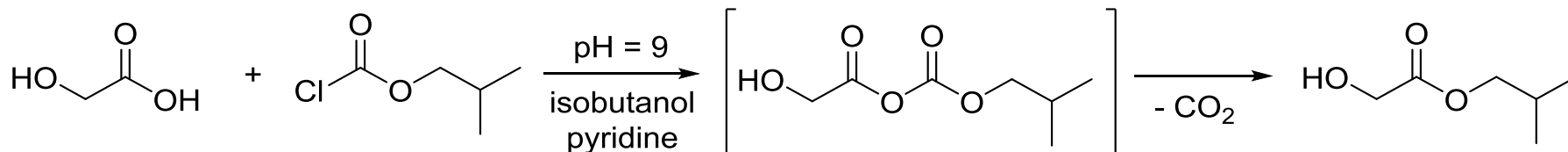
3. Stanovení ethylenglykolu a kyseliny glykolové metodou GC-FID

Dvojstupňová derivatizace

A. Derivatizace kyselinou fenylboritou



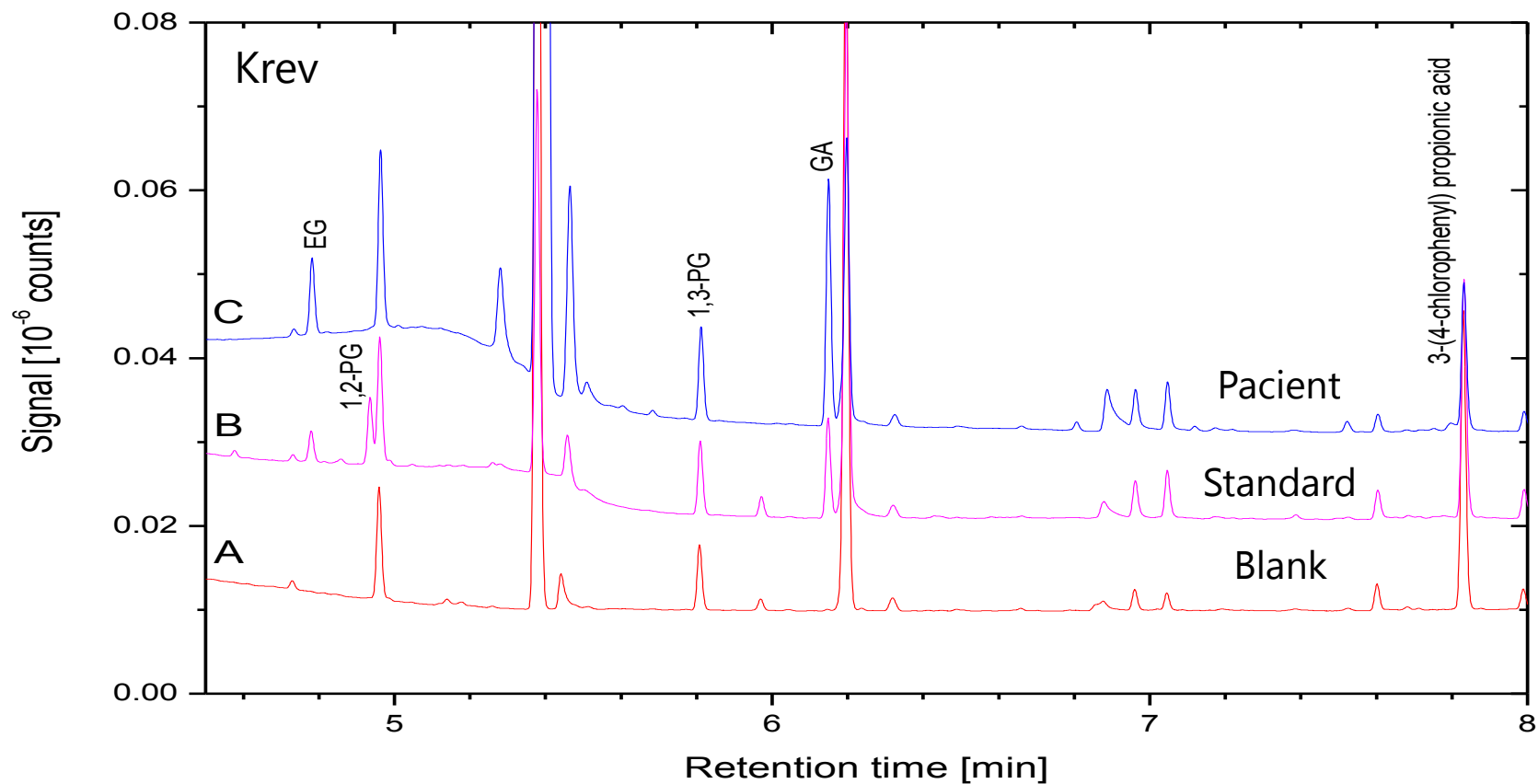
B. Derivatizace izobutylchlormravenčanem



- obě reakce ve vodné fázi (není nutná extrakce analytů pro derivatizaci)
- kvantitativní reakce v řádu desítek sekund



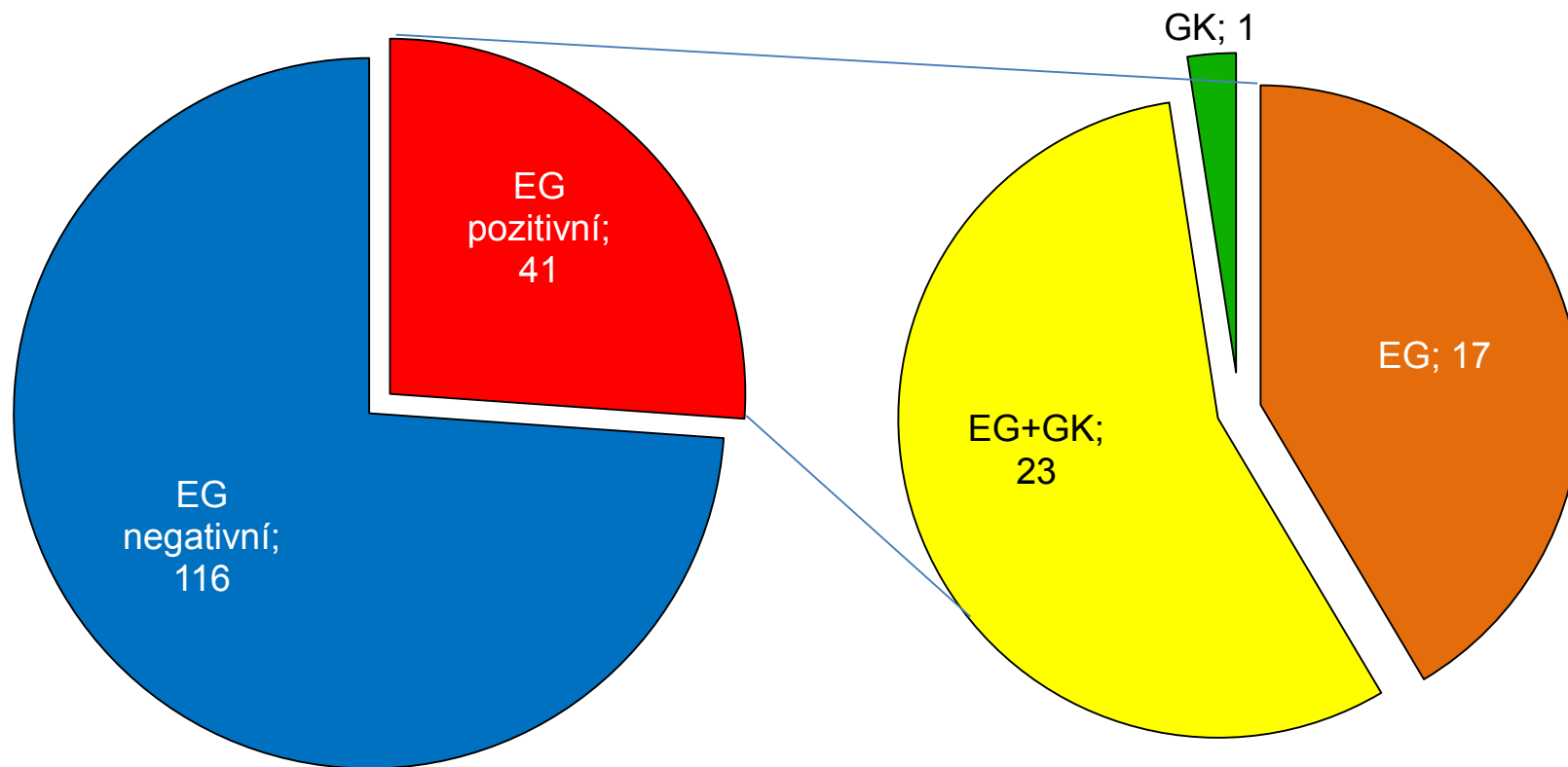
3. Stanovení ethylenglykolu a kyseliny glykolové metodou GC-FID





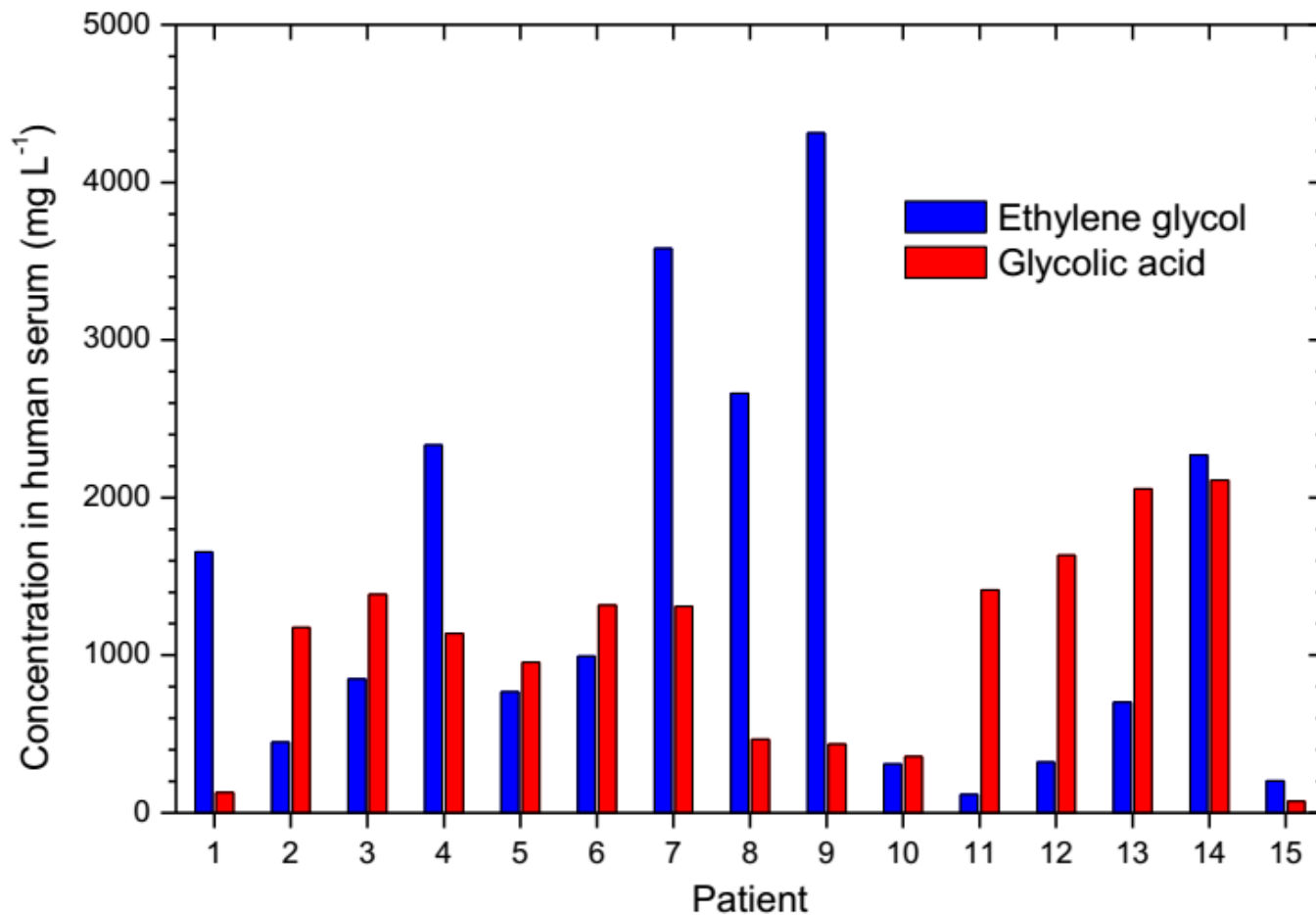
3. Stanovení ethylenglykolu a kyseliny glykolové metodou GC-FID

Počet analýz EG 2014 - 2015 na ÚSLTOX





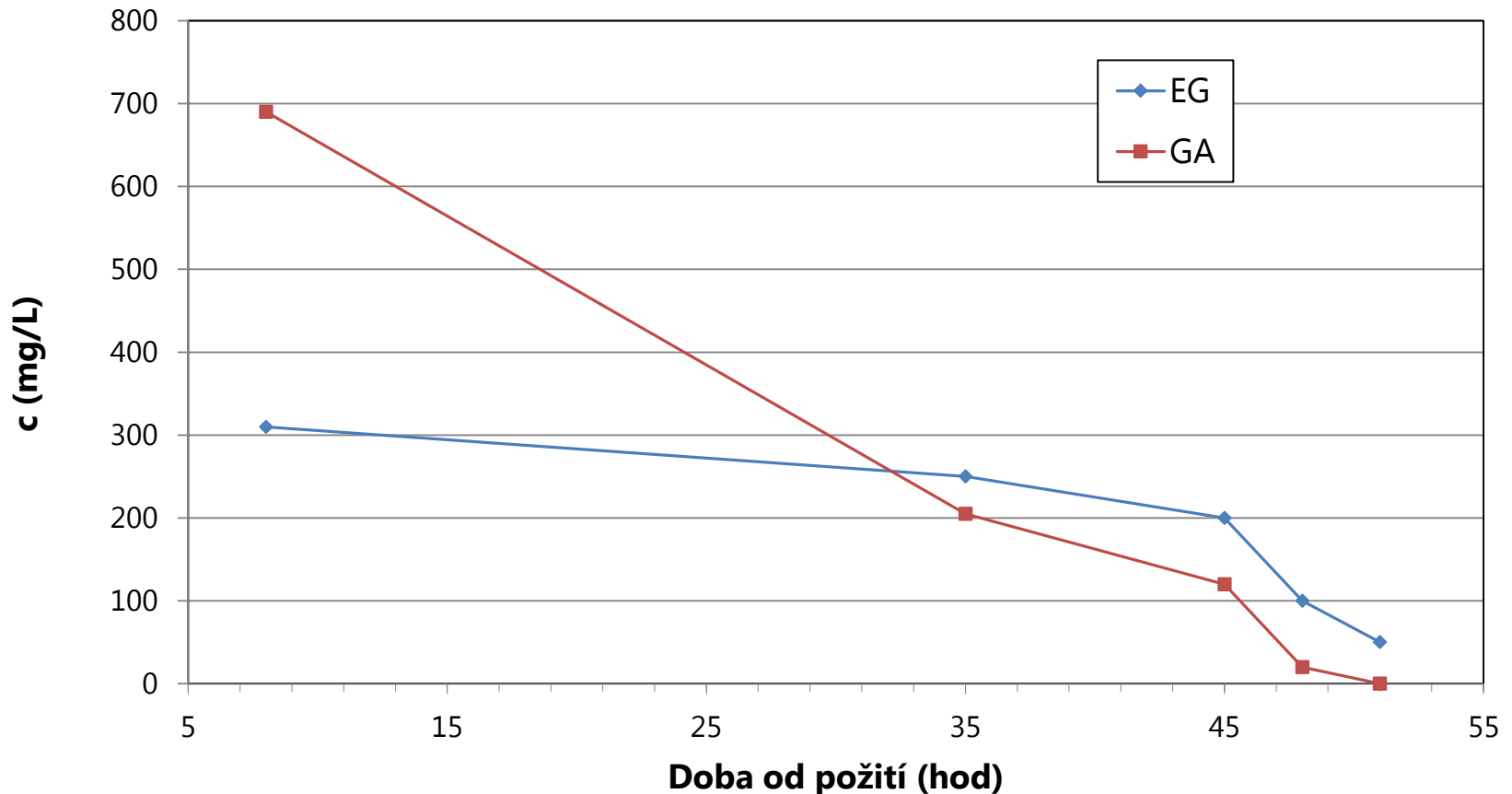
3. Stanovení ethylenglykolu a kyseliny glykolové metodou GC-FID





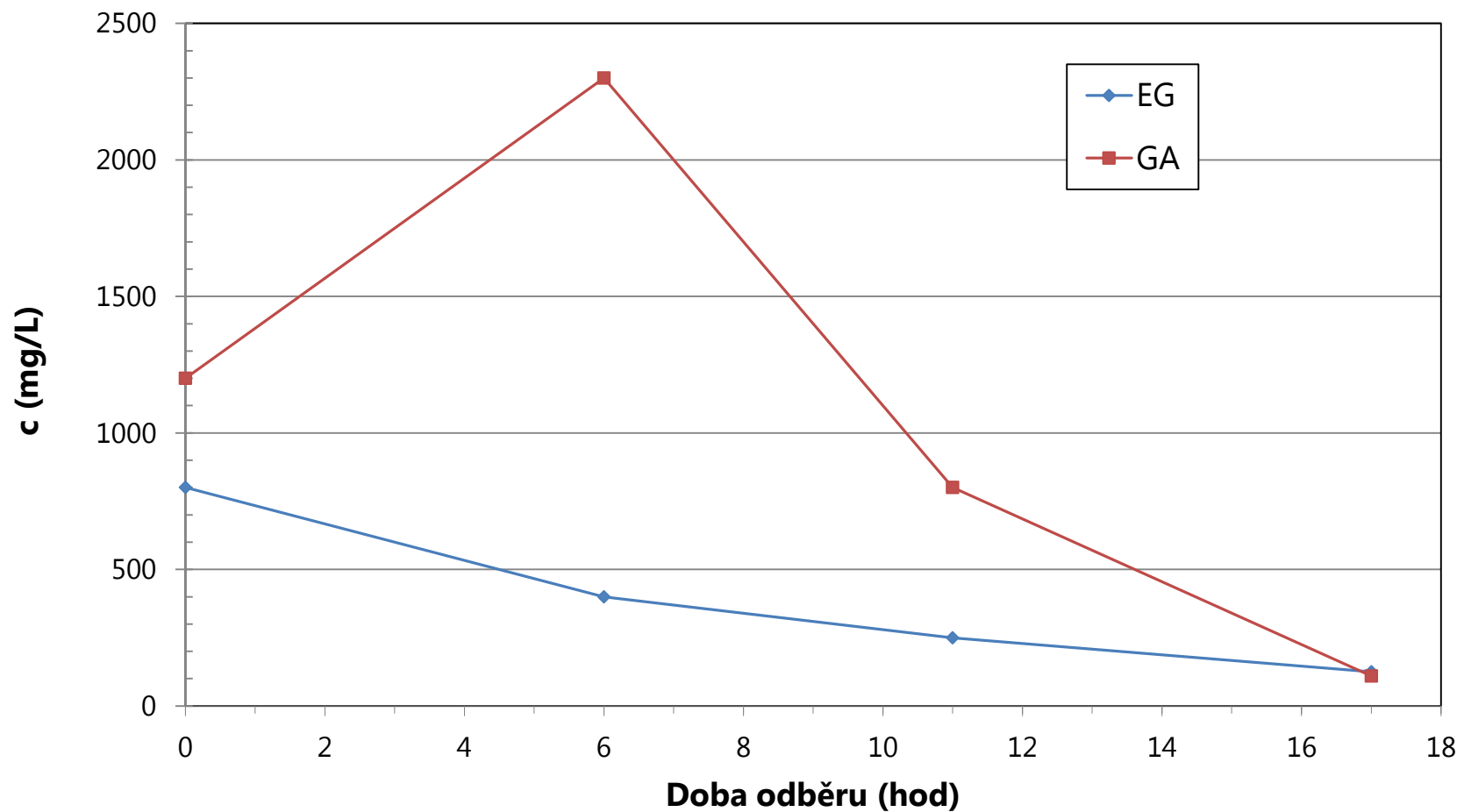
3. Stanovení ethylenglykolu a kyseliny glykolové metodou GC-FID

Chlapec (15 let), požil asi 300 mL nemrznoucí směsi a jehličí tisu, pokus o sebevraždu



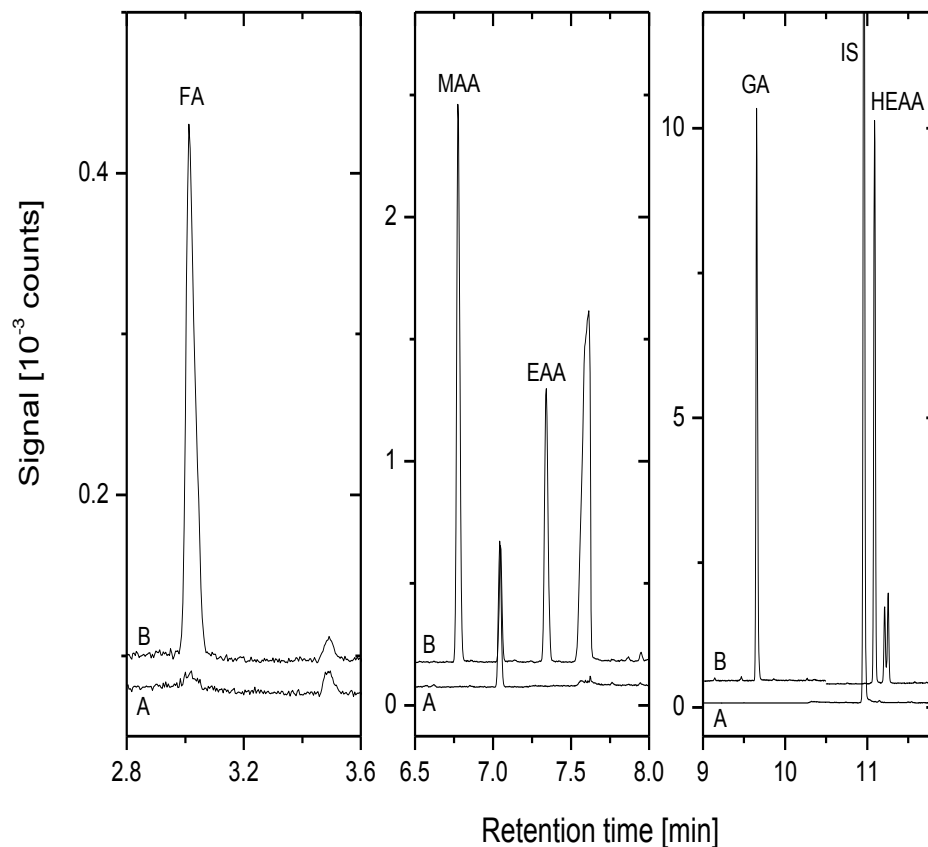
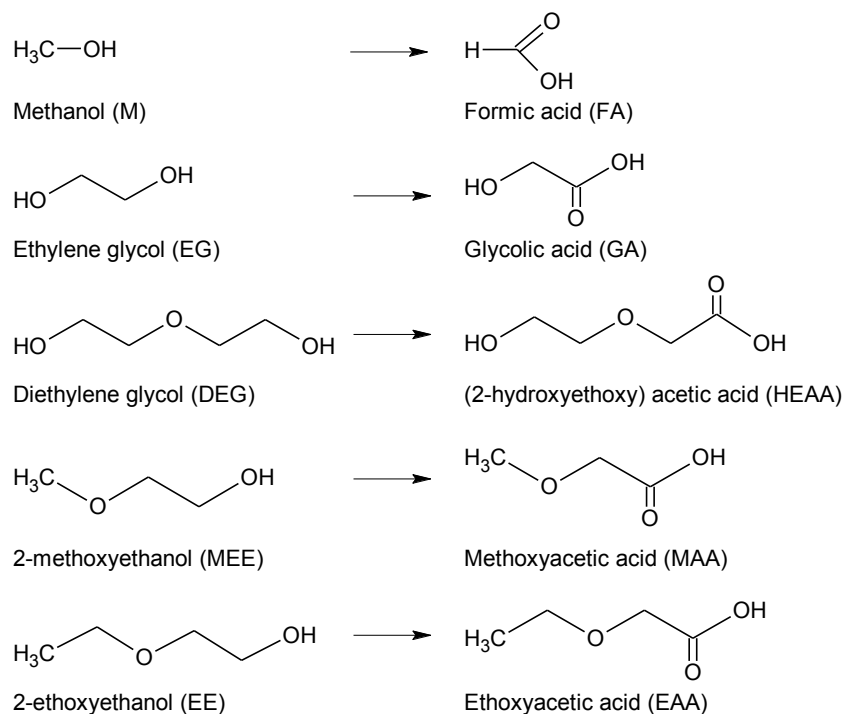
3. Stanovení ethylenglykolu a kyseliny glykolové metodou GC-FID

Žena (48 let), alkoholička, bezvědomí neznámé etiologie



4. Stanovení dalších acidózu vyvolávajících alkoholů metodou GC-MS

Kvalitativní a kvantitativní analýza kyselin po derivatizaci isobutylchlormravenčanem





Použitá literatura

Hložek, T.; Bursová, M.; Čabala, R.

Simultaneous and cost-effective determination of ethylene glycol and glycolic acid in human serum and urine for emergency toxicology by GC-MS.

Clinical Biochemistry **48**, 189-191 (2015).

Hložek, T.; Bursová, M.; Čabala, R.

Fast determination of ethyleneglycol, 1,2-propylene glycol and glycolic acid in blood serum and urine for emergency and clinical toxicology by GC-FID.

Talanta **130**, 470-474 (2014).

Hložek, T.; Bursová, M.; Čabala, R.

Identification and quantification of acidosis inducing metabolites in cases of alcohols intoxication by GC-MS for emergency toxicology.

Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis **114**, 16-21 (2015)



Poděkování

Autoři děkují za finanční podporu

Operačnímu programu Praha Konkurenceschopnost č. CZ.2.16/3.1.00/24012,
Univerzitě Karlově v Praze (projekt SVV 260205)

a

Vám za pozornost.



Nashledanou a nepijte (příliš) !

