

# Δικαστική Τοξικολογία



**Βασιλική Μπούμπα**  
Αναπληρωτής Καθηγητής

**Εργαστήριο Ιατροδικαστικής & Τοξικολογίας,  
Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων**  
vboumba@uoi.gr

Βασιλική Μπούμπα, Τμήμα Ιατρικής,

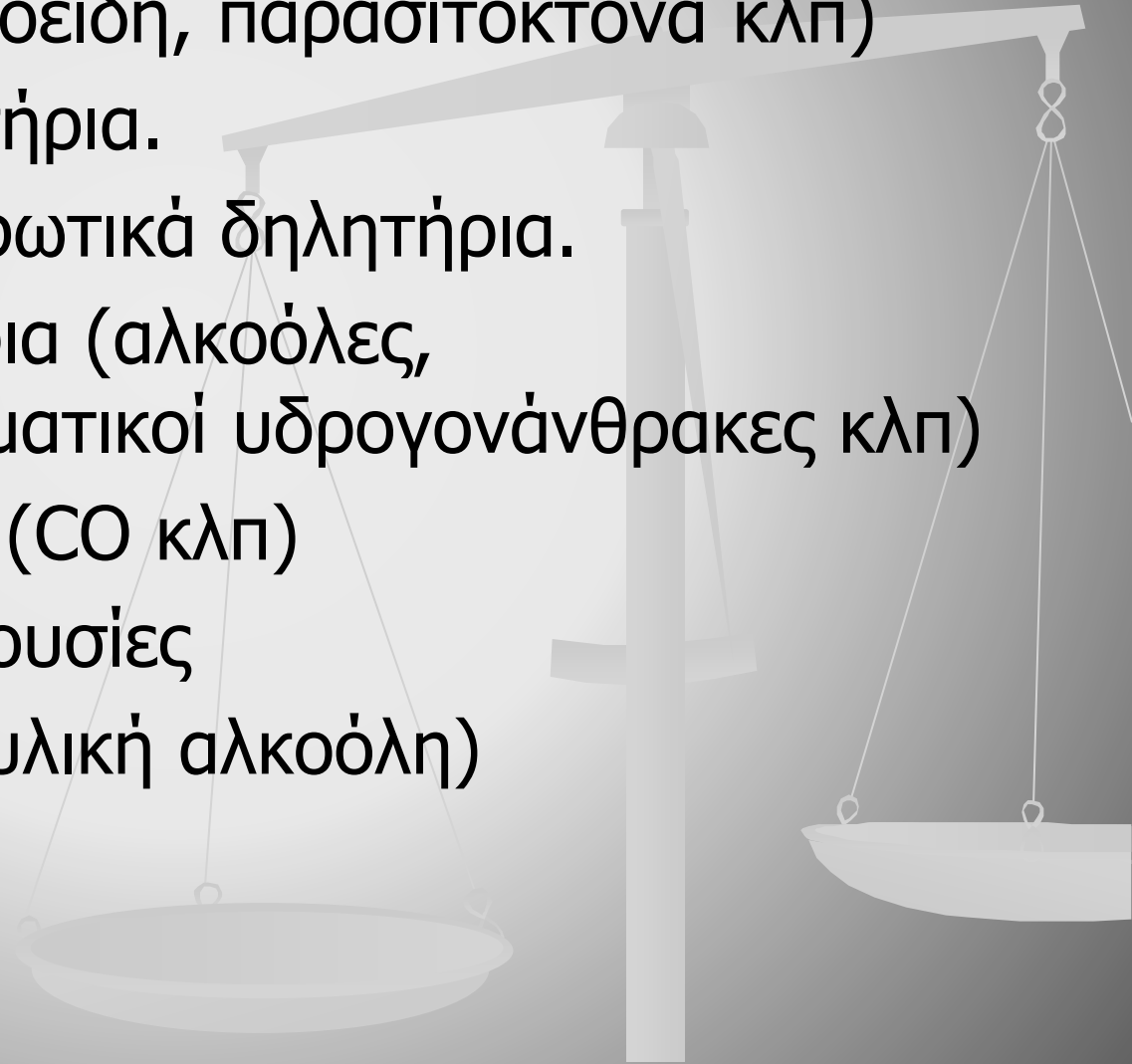
# Ποιες τοξικές ουσίες (νόμιμες ή μη) ελέγχονται;;

- Οινόπνευμα,
  - Εξαρτησιογόνες ουσίες (συνηθέστερα κανναβινοειδή, κοκαΐνη, οπιούχα, αμφεταμίνες, βενζοδιαζεπίνες)
  - Συνταγογραφούμενες ψυχοτρόπες ουσίες (αντικαταθλιπτικά, αντιψυχωτικά κλπ)
  - Άλλα συνταγογραφούμενα φάρμακα,
  - Τοξικά αέρια (μονοξείδιο του άνθρακα κα)
  - Πτητικές ουσίες,
- αλλά και
- γ-υδροξυβουτυρικό GHB
  - φυτοφάρμακα,
  - βαρέα μέταλλα, και
  - άλλων δηλητηρίων, πχ φυτικά δηλητήρια, νέα «συνθετικά» ναρκωτικά

**...με βάση ότι ΑΝΑΓΡΑΦΕΤΑΙ ΣΤΗΝ ΕΝΤΟΛΗ  
ΓΙΑ ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ**

# Συνήθης (αλλά όχι μοναδική) Διάκριση Δηλητηρίων

- Οργανικά δηλητήρια (φάρμακα οργανικής σύνθεσης, αλκαλοειδή, παρασιτοκτόνα κλπ)
- Μεταλλικά δηλητήρια.
- Καυστικά – διαβρωτικά δηλητήρια.
- Πτητικά δηλητήρια (αλκοόλες, αλειφατικοί/αρωματικοί υδρογονάνθρακες κλπ)
- Αέρια δηλητήρια (CO κλπ)
- Εξαρτησιογόνες ουσίες
- Οινόπνευμα (αιθυλική αλκοόλη)



# **(Δικαστικός) Τοξικολόγος** *κατ' εντολή των Αρμοδίων Δικαστικών Αρχών*

**Είναι υπεύθυνος**  
**για την διενέργεια τοξικολογικής ανάλυσης που αφορά:**

- **Διερεύνηση αιτιών θανάτου (ευθύνη του ιατροδικαστή)**  
**Σε συνεργασία με Ιατροδικαστή, Παθολογοανατόμο**
- **Διερεύνηση εγκληματικών πράξεων (βιασμοί, διακίνηση ναρκωτικών κα)**
  - **Έλεγχοι τροχαίας σε οδηγούς για κατανάλωση οινοπνεύματος ή τοξικών ουσιών κλπ**

***Πραγματογνώμονας: γνωμάτευση -κατάθεση***

# Δικαστική Τοξικολογία και άλλες ιατρικές ειδικότητες

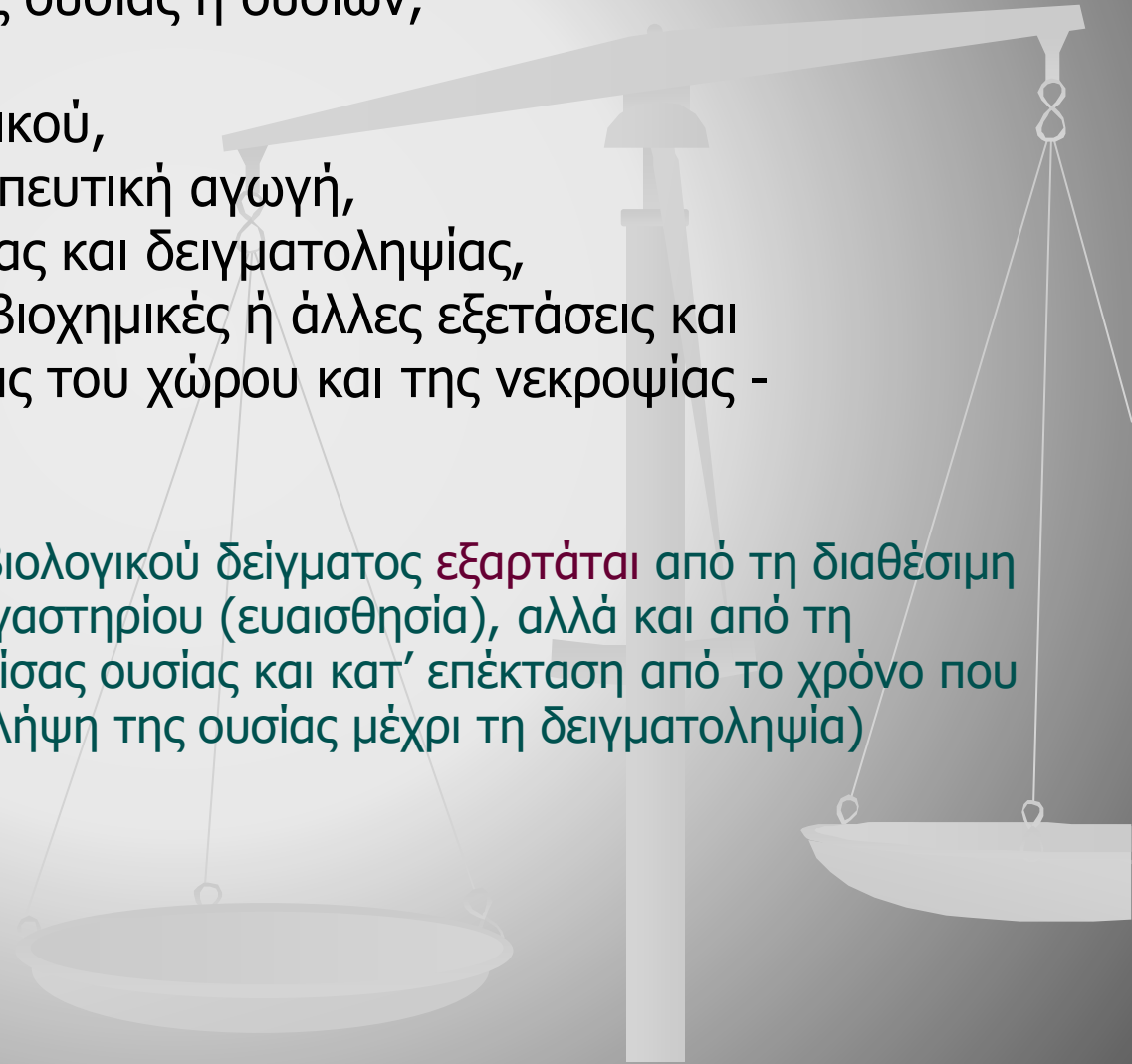
- Διερεύνηση περιστατικών με συμπτώματα δηλητηρίασης.  
**(κλινικά / ιατρικά περιστατικά)**



# Απαραίτητες Πληροφορίες στο Εργαστήριο πριν την Τοξικολογική Ανάλυση

- είναι η φύση της ύποπτης ουσίας ή ουσιών,
- η πιθανή δόση,
- το ιστορικό του περιστατικού,
- η φαρμακευτική και θεραπευτική αγωγή,
- οι χρόνοι λήψης της ουσίας και δειγματοληψίας,
- τα κλινικά συμπτώματα, βιοχημικές ή άλλες εξετάσεις και
- τα ευρήματα της αυτοψίας του χώρου και της νεκροψίας - νεκροτομής.

(Η επιλογή του προς ανάλυση βιολογικού δείγματος εξαρτάται από τη διαθέσιμη μεθοδολογία του εργαστηρίου (ευαισθησία), αλλά και από τη φαρμακοκινητική της ληφθείσας ουσίας και κατ' επέκταση από το χρόνο που μεσολάβησε από τη λήψη της ουσίας μέχρι τη δειγματοληψία)



# Τα Στάδια της Τοξικολογικής Ανάλυσης

- Η ταξινόμηση των βιολογικών υλικών,
- **Ο προανατολιστικός έλεγχος (screening):** έλεγχος παρουσίας ουσίας ή κατηγορίας ουσιών
- **Ο επιβεβαιωτικός έλεγχος** ακολουθεί τον προανατολιστικό έλεγχο
  - Η απομόνωση, παραλαβή και ταυτοποίησή των τοξικών ουσιών (ποιοτικός προσδιορισμός),
  - Επιβεβαίωση και ποσοτικός προσδιορισμός των τοξικών ουσιών
  - Κατά προτίμηση με χρήση φαρματομετρίας μάζας
    - GC-MS ή LC-MS/MS
    - tandem MS, i.e. MS/MS
- Η αξιολόγηση του αποτελέσματος
- Έκθεση Τοξικολογικής Εξέτασης – τοξικολογική πραγματογνωμοσύνη

# Δειγματοληψία για τοξικολογική ανάλυση

Είδος Περιστατικού	Δειγματοληψία (τουλάχιστον)
Νεκροτομικό υλικό (συνήθη περιστατικά, μη εμφανή σημεία σήψης)	Αίμα (περιφερειακό), ορός (περιφερειακό), υαλοειδές υγρό, ούρα, στομαχικό περιεχόμενο (όλο), τρίχες
Νεκροτομικό υλικό (ιδιαίτερα / ύποπτα περιστατικά)	Αίμα (περιφερειακό), ορός (περιφερειακό), ούρα, ήπαρ, στομαχικό περιεχόμενο (όλο), τρίχες
Νεκροτομικό υλικό (περιστατικά με σηπτικές εξεργασίες)	Αίμα, ούρα, ήπαρ και/ή μυϊκός ιστός, τρίχες
Έλεγχος χρήσης ουσιών στο εργασιακό περιβάλλον (περιλαμβάνονται έλεγχοι προ και μετά της πρόσληψης για εργασία)	Ούρα, σάλιο, τρίχες
Χρήση ουσιών για διευκόλυνση εγκληματικών ενεργειών Drug-Facilitated Assaults (κλινικά)	Αίμα, ούρα, τρίχες
Έλεγχος σε οδηγούς / πεζούς (σε ύποπτους και σε τροχαία ατυχήματα)	Αίμα
Τυπικοί έλεγχοι της Τροχαίας	Σάλιο ή Αίμα
Ιατροδικαστική διερεύνηση άλλων κλινικών περιστατικών (υποψία δηλητηριάσεων, παραμέληση ανηλίκων κλπ)	Αίμα, ούρα, τρίχες



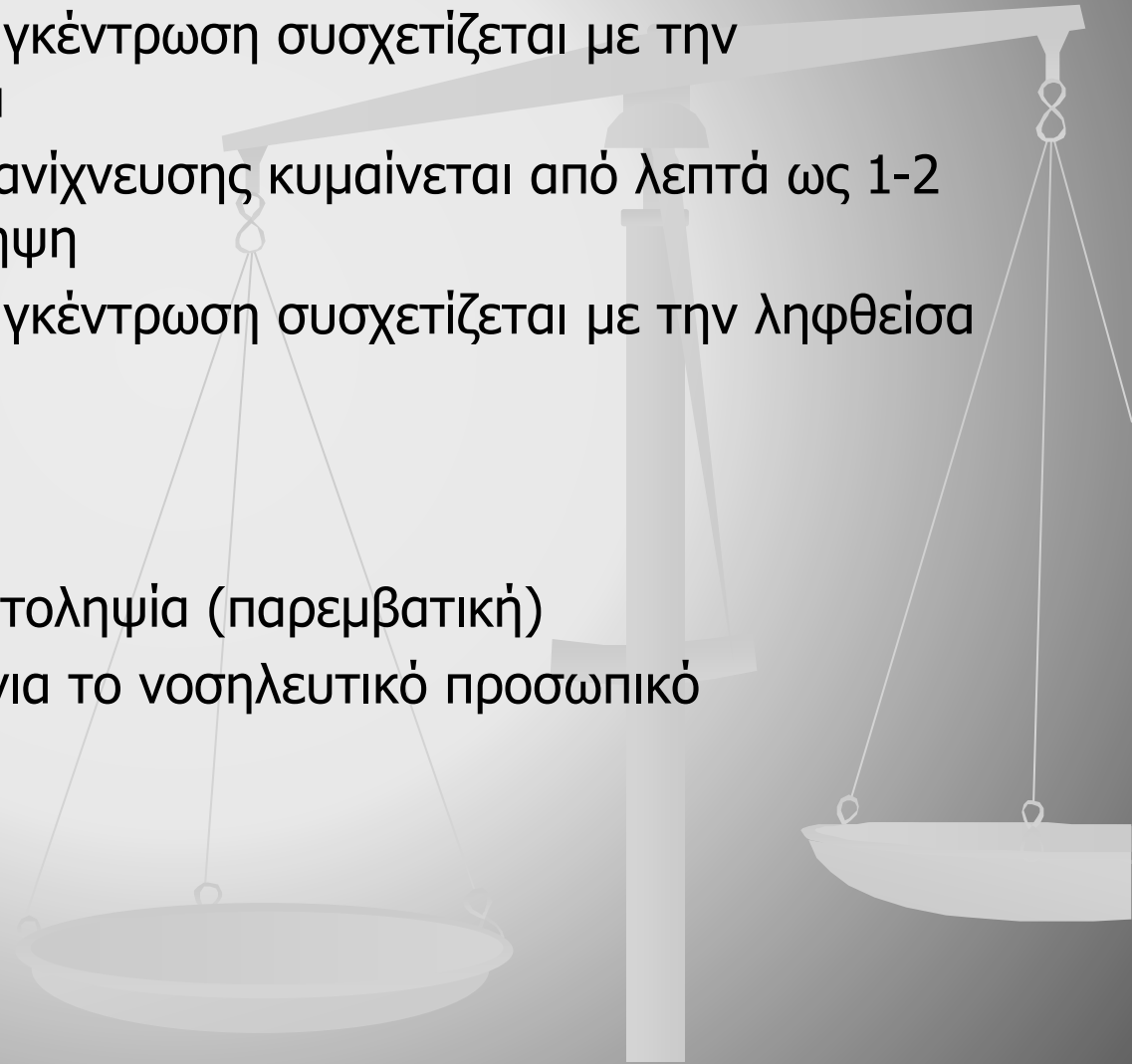
# Ανάλυση αίματος

## Πλεονεκτήματα

- Η ανευρεθείσα συγκέντρωση συσχετίζεται με την συμπτωματολογία
- χρονικό κατώφλι ανίχνευσης κυμαίνεται από λεπτά ως 1-2 μέρες μετά την λήψη
- Η ανευρεθείσα συγκέντρωση συσχετίζεται με την ληφθείσα δόση

## Μειονεκτήματα

- Απαιτείται δειγματοληψία (παρεμβατική)
- Πιθανοί κίνδυνοι για το νοσηλευτικό προσωπικό



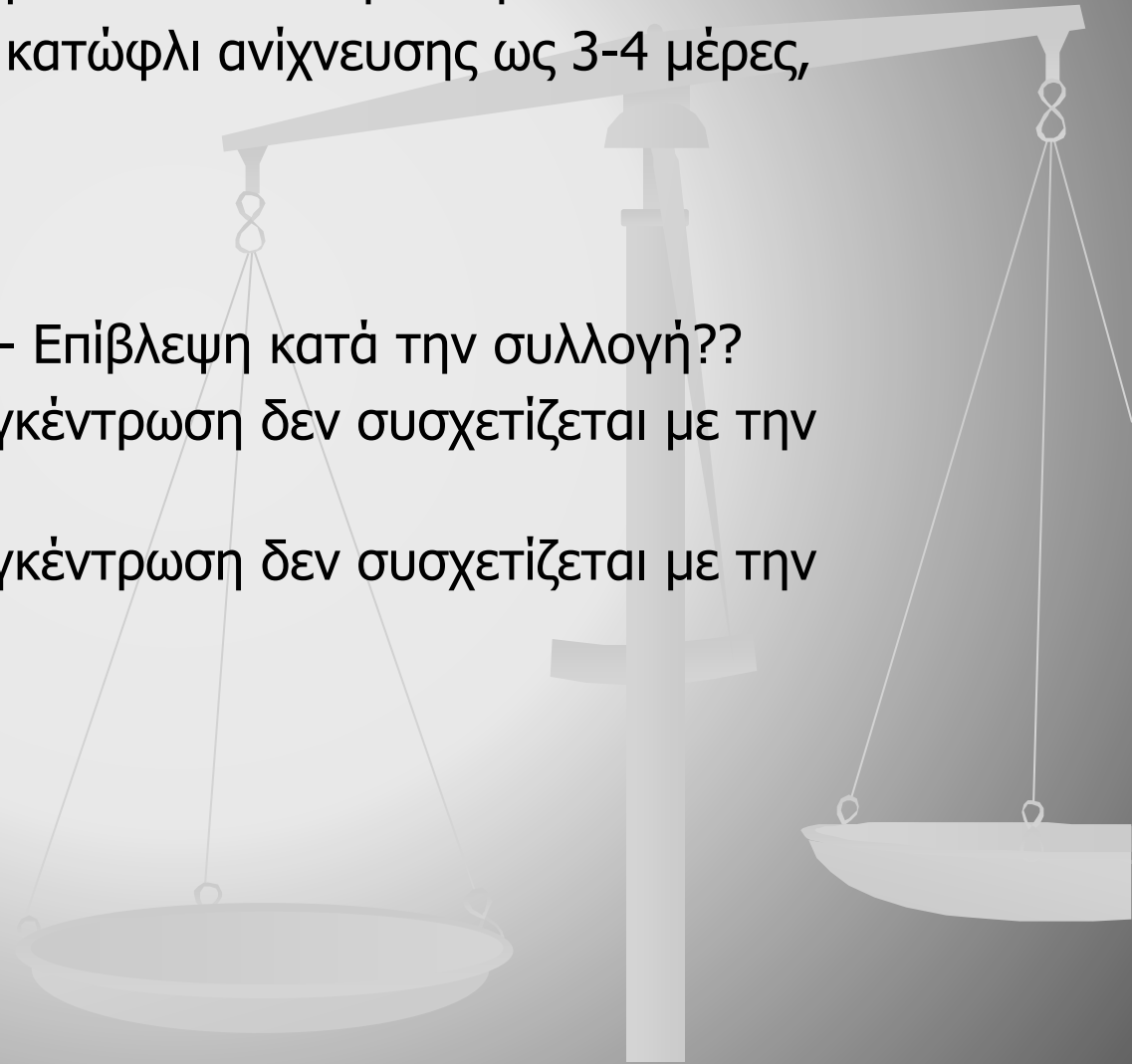
# Ανάλυση ούρων

## Πλεονεκτήματα

- Εύκολα «διαχειρίσιμο» αναλυτικά βιολογικό υλικό
- Ευρύτερο χρονικό κατώφλι ανίχνευσης ως 3-4 μέρες, συνήθως

## Μειονεκτήματα

- Εύκολα νοθεύσιμο- Επίβλεψη κατά την συλλογή??
- Η ανευρεθείσα συγκέντρωση δεν συσχετίζεται με την ληφθείσα δόση
- Η ανευρεθείσα συγκέντρωση δεν συσχετίζεται με την συμπτωματολογία

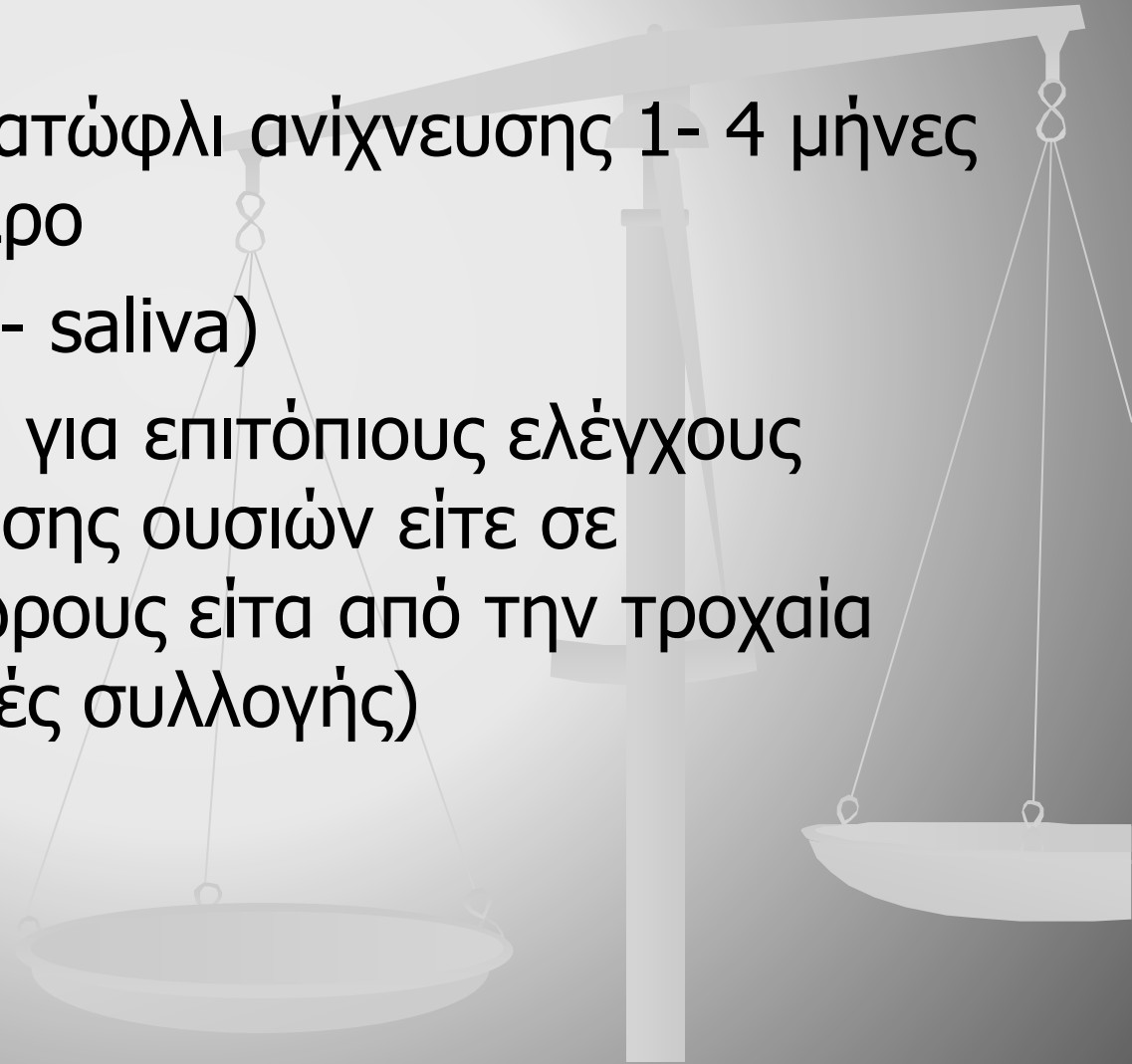


## ■ Τρίχες

- Ευρύ χρονικό κατώφλι ανίχνευσης 1- 4 μήνες ή και περισσότερο

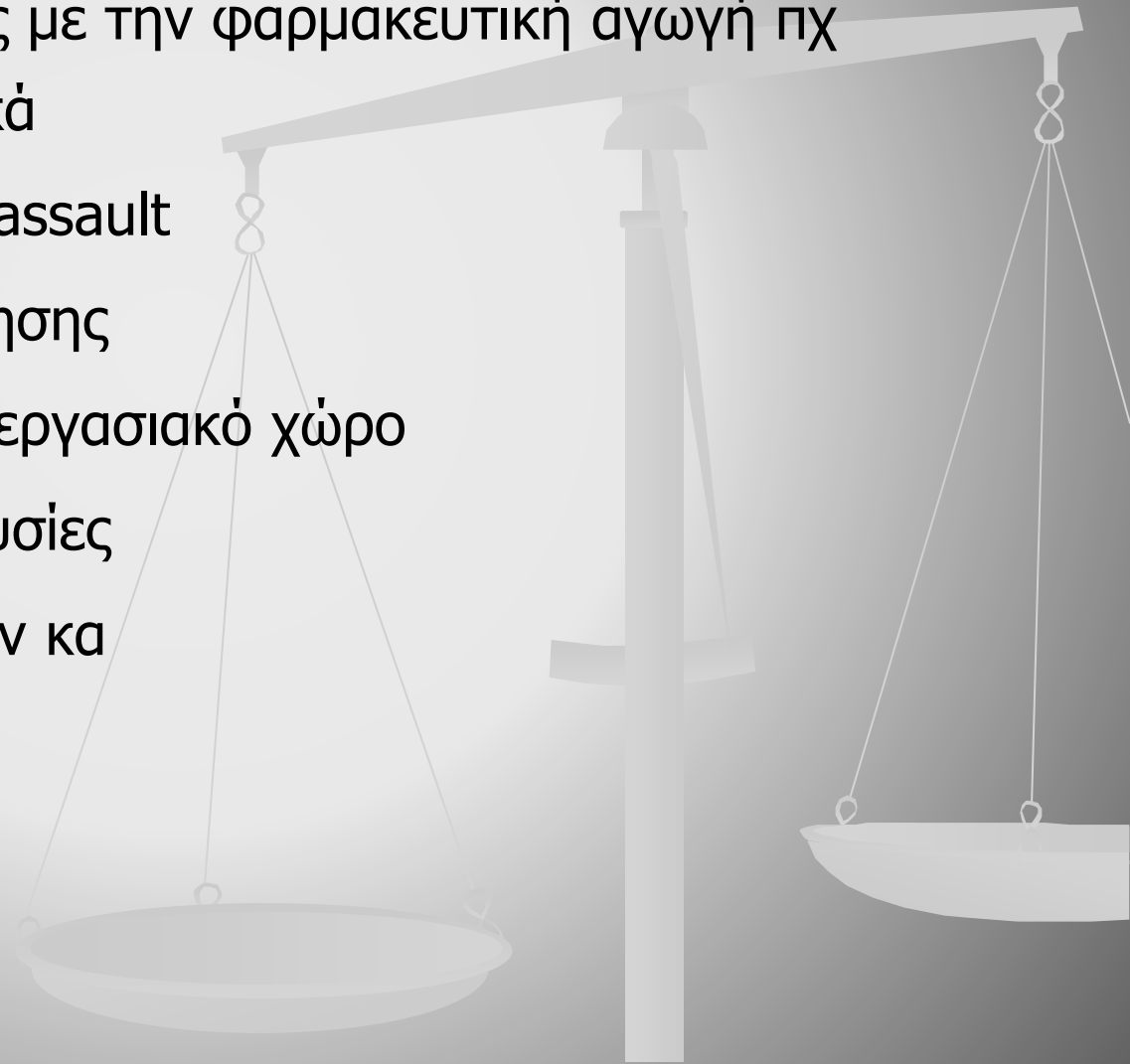
## ■ Σάλιο (Oral Fluid - saliva)

- Χρησιμοποιείται για επιτόπιους ελέγχους πρόσφατης χρήσης ουσιών είτε σε εργασιακούς χώρους είτε από την τροχαία (ειδικές συσκευές συλλογής)



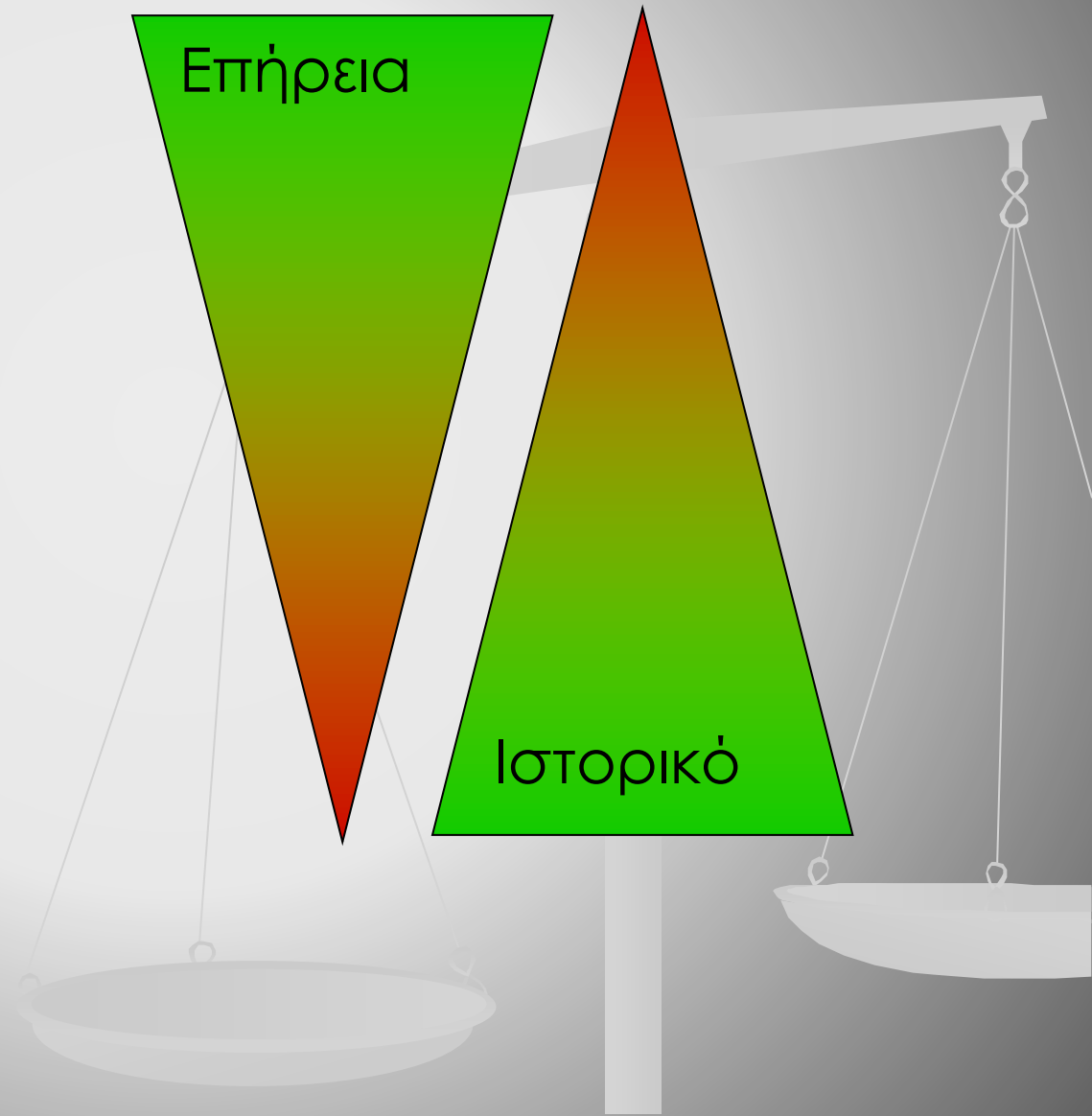
# Ανάλυσης τριχών: πότε???

- Συμμόρφωση ασθενούς με την φαρμακευτική αγωγή πχ μεθαδόνη, αντιψυχωτικά
- Drug facilitated sexual assault
- Προγράμματα απεξάρτησης
- Επιτόπιοι έλεγχοι στον εργασιακό χώρο
- Έκθεση ανηλίκων σε ουσίες
- Ιστορικό χρήσης ουσιών κα



# Καταλληλότητα βιολογικού υλικού?

- Αίμα
- Σάλιο
- Ούρα
- Τρίχες



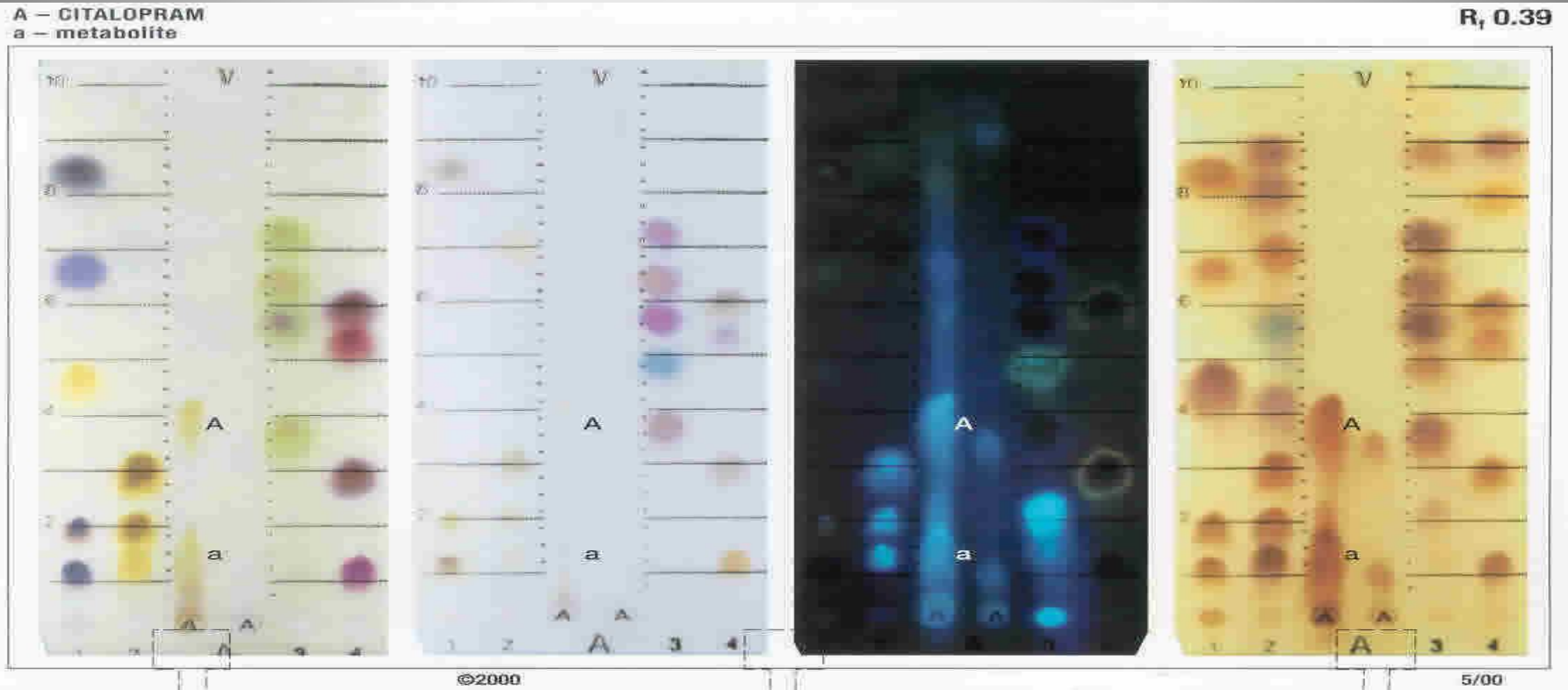
# Προσανατολιστικός έλεγχος

(ούρα, αίμα, ...)

- έλεγχος για παρουσία φαρμάκων (Screening) ή προκαταρκτικές αναλύσεις
  - ταχείες μέθοδοι αποκλεισμού ουσιών ή επιλογής κατηγοριών ουσιών ή μιας μόνο ουσίας
    - Οπιούχα, βενζοδιαζεπίνες, κοκαΐνη κλπ
    - Βασικά φάρμακα
    - Όξινα φάρμακα
  - Συχνά δεν οδηγούν στην ανίχνευση κάποιας ουσίας



- TLC – thin layer chromatography

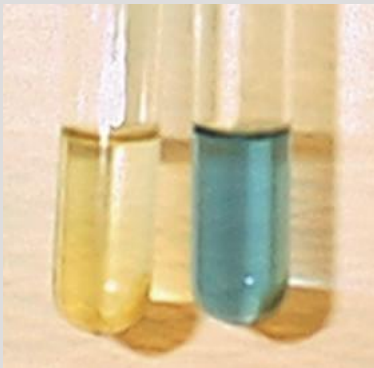


# Χρωματικές αντιδράσεις

Paraquat et

Salicylates  
(Tinder)

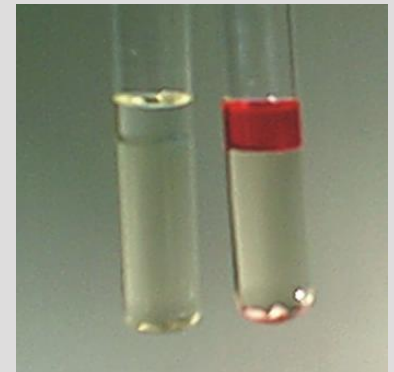
Chloral Hydrate  
(Fujiwara)



**NaOH**  
**Na Dithionite**



**Fe(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>**  
**HCl**



**NaOH**  
**Pyridine, 100°C**

UV

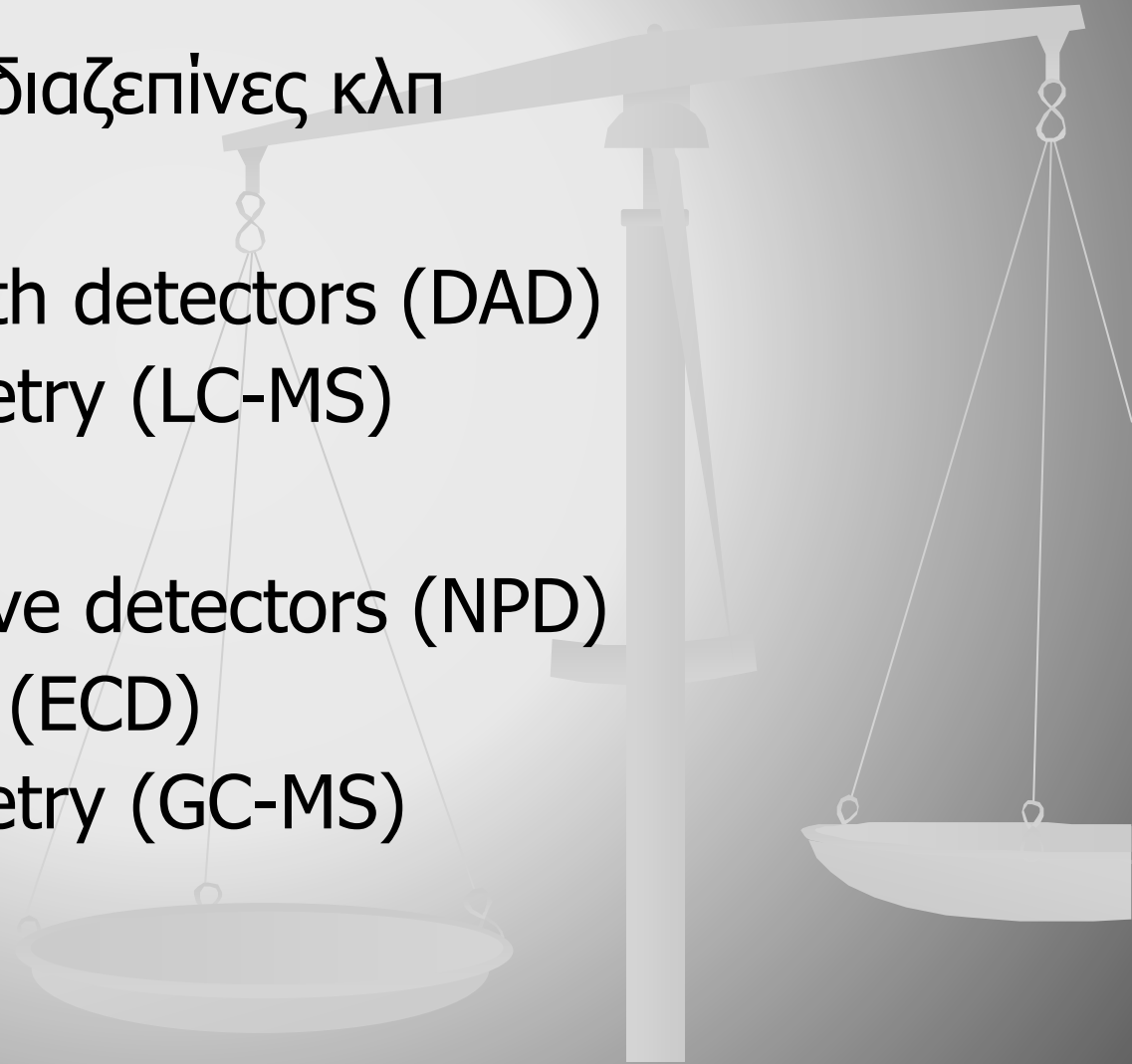
Confirmation and Quantification:  
GC-MS, IA

GC-MS  
(Trichloroethanol)



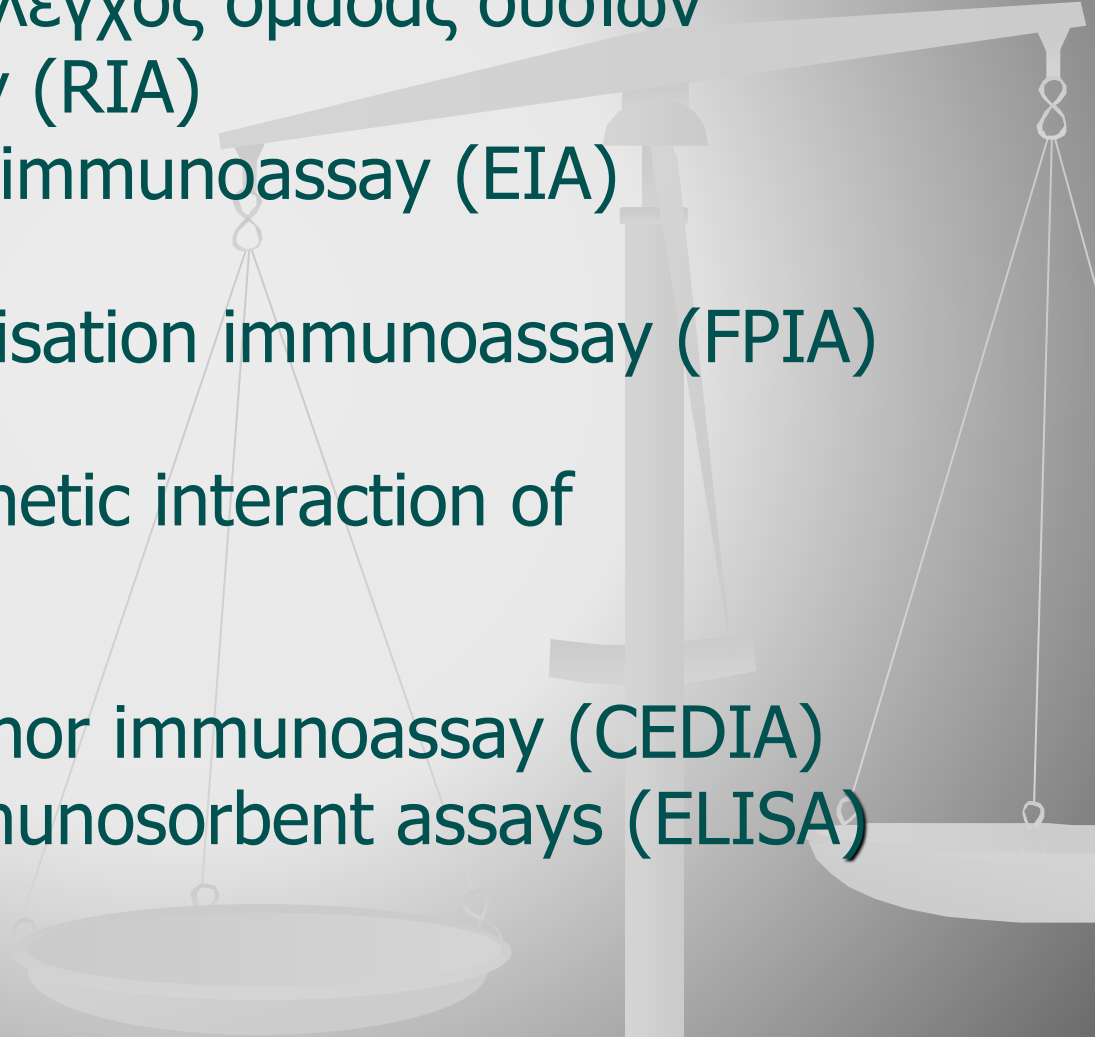
# Προσανατολιστικές μέθοδοι

- Ανοσοχημικές
  - Οπιούχα, βενζοδιαζεπίνες κλπ
- HPLC
  - multi-wavelength detectors (DAD)
  - mass spectrometry (LC-MS)
- GC
  - nitrogen selective detectors (NPD)
  - other detectors (ECD)
  - mass spectrometry (GC-MS)



# Ανοσοχημικές Μέθοδοι

Προσανατολιστικός έλεγχος ομάδας ουσιών

- Radioimmunoassay (RIA)
  - Enzyme multiplied immunoassay (EIA)
    - EMIT
  - Fluorescence polarisation immunoassay (FPIA)
    - TDx, ADx
  - Agglutination or kinetic interaction of microparticles
    - TRIAGE, ONLINE
  - Cloned enzyme donor immunoassay (CEDIA)
  - Enzyme linked immunosorbent assays (ELISA)
- 

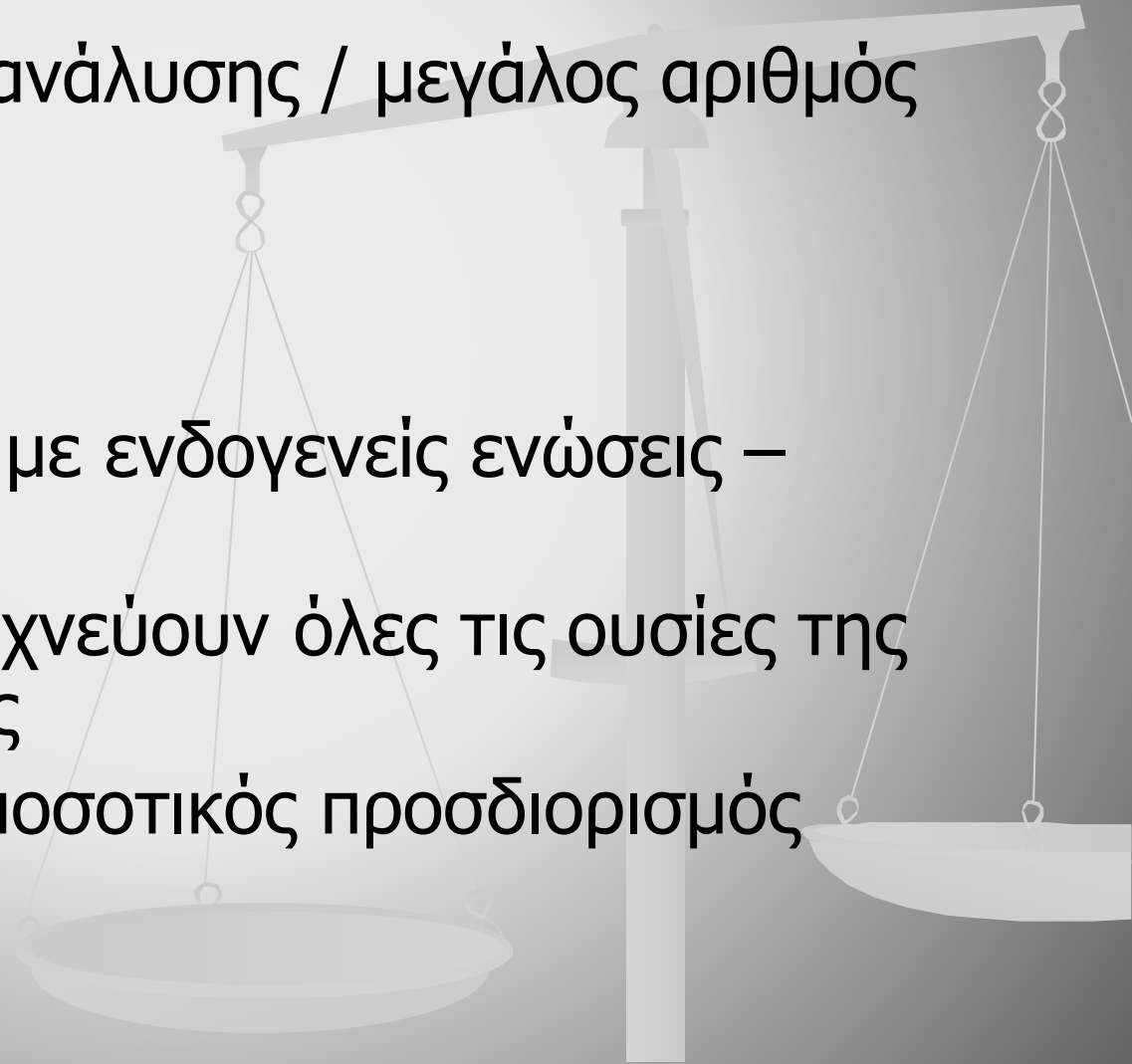
# Ανοσοχημικές Μέθοδοι

## ■ Πλεονεκτήματα

- Μικρός χρόνος ανάλυσης / μεγάλος αριθμός δειγμάτων

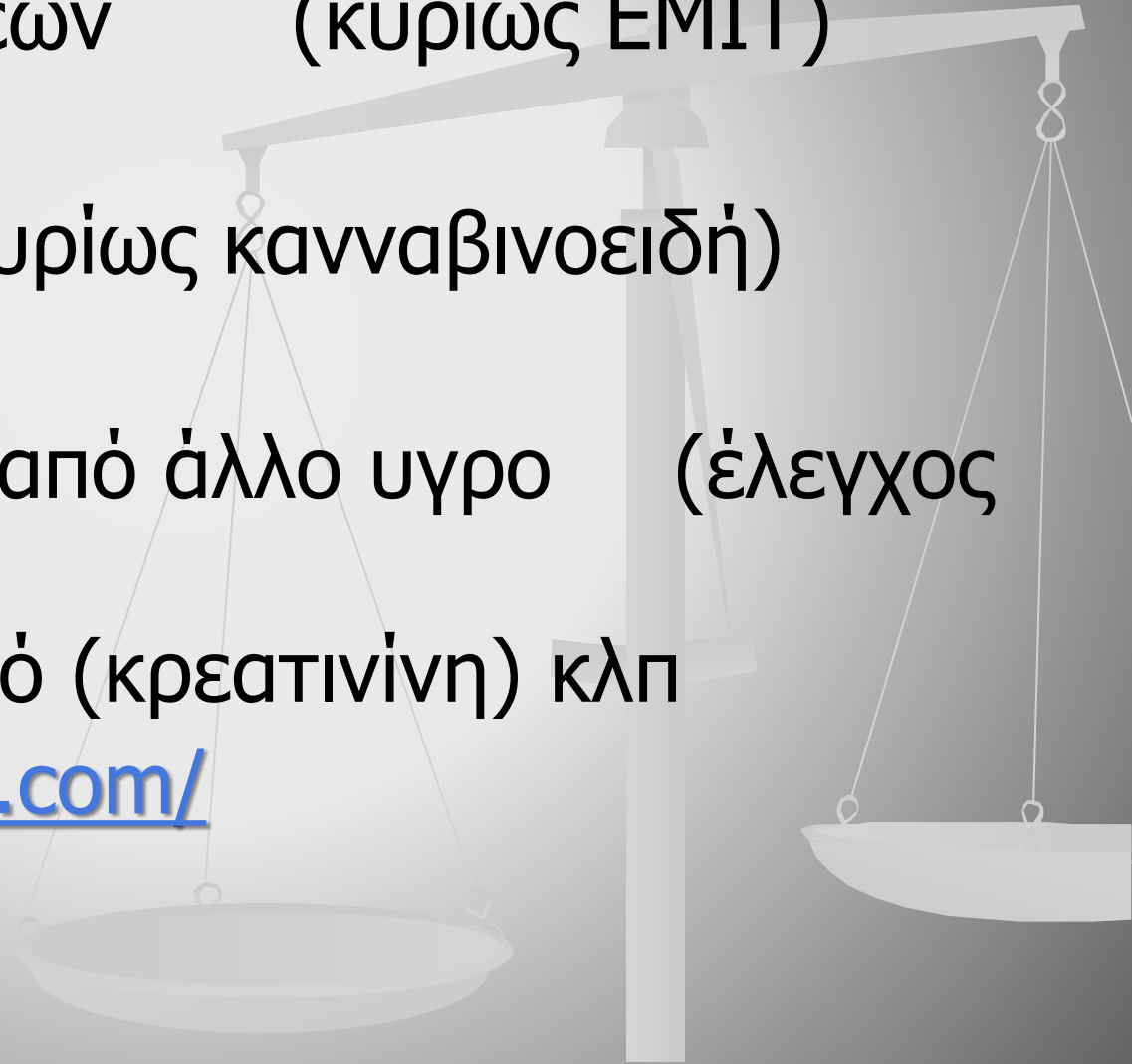
## ■ Μειονεκτήματα

- Μη ειδικές
- Αλληλεπίδραση με ενδογενείς ενώσεις – ψευδώς θετικά
- Πιθανόν δεν ανιχνεύουν όλες τις ουσίες της ίδιας κατηγορίας
- Ποιοτικός / ημιποσοτικός προσδιορισμός



# Ψευδώς αρνητικά -ούρα (αλλοιωμένα)

- Διαλύματα βάσεων (κυρίως EMIT)
- Απορρυπαντικά
- λευκαντικά (κυρίως κανναβινοειδή)
- Ξύδι
- Αντικατάσταση από άλλο υγρό (έλεγχος pH)
- Αραίωση με νερό (κρεατινίνη) κλπ
- <http://urineluck.com/>



# Ψευδώς θετικά - ανοσοχημικές μέθοδοι

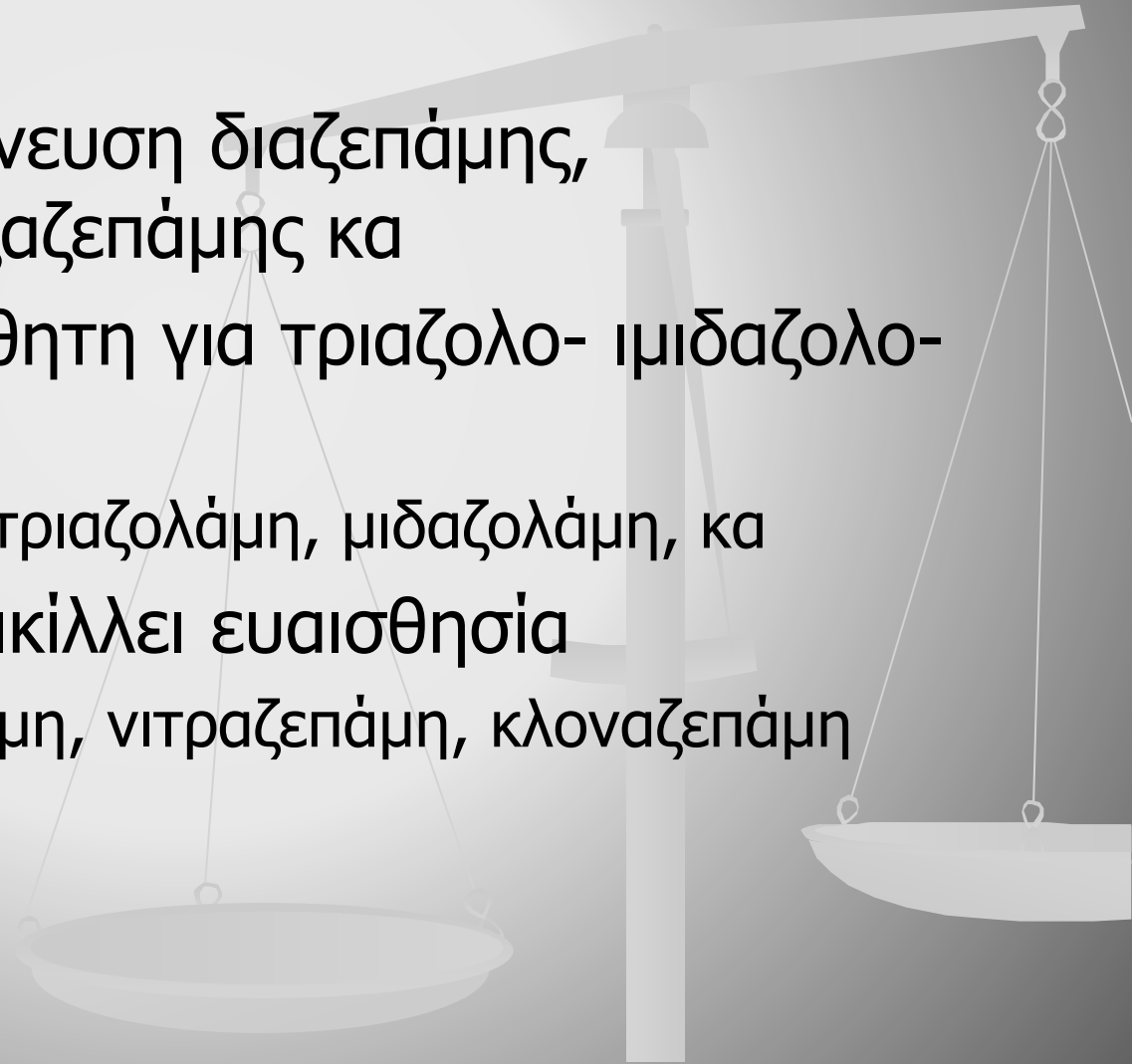
Drug/drug class	Interfering drug	Drug/drug class	Interfering drug
Amphetamine and methamphetamine	Amantadine	Cocaine	Amoxicillin
	Brompheniramine		Coca leaf teas
	Bupropion		Tonic water
	Chlorpromazine	Methadone	Chlorpromazine
	Desipramine		Clomipramine
	Desoxyephedrine		Diphenhydramine
	Ephedrine		Doxylamine
	Fluoxetine		Ibuprofen
	Isometheptene		Quetiapine
	Isoxsuprine		Thioridazine
	Labetalol		Verapamil
	Phentermine	Opiates	Dextromethorphan
	Phenylephrine		Diphenhydramine
	Phenylpropanolamine		Fluoroquinolones <sup>a</sup>
	Promethazine		Poppy seeds and oil
	Pseudoephedrine		Rifampin
	Ranitidine		Quinine
	Selegiline	Phencyclidine	Dextroamphetamine
	Thioridazine		Dextromethorphan
	Trazodone		Diphenhydramine
Trimethobenzamide	Doxylamine		
Trimipramine	Ibuprofen		
Vicks inhaler <sup>b</sup>	Imipramine		
	Ketamine		
	Meperidine		
	Thioridazine		
	Tramadol		
	Venlafaxine		
Barbiturates	Ibuprofen	Tricyclic antidepressants	Carbamazepine
	Naproxen		Cyclobenzaprine
Benzodiazepines	Oxaprozin		Cyproheptadine
	Sertraline		Diphenhydramine
Cannabinoids	Dronabinol		Hydroxyzine
	Efavirenz		
	Hemp-containing foods		
	Ibuprofen		
	Ketoprofen		
	Naproxen		



# Ευαισθησία/ ειδικότητα ανίχνευσης

## ■ Βενζοδιαζεπίνες

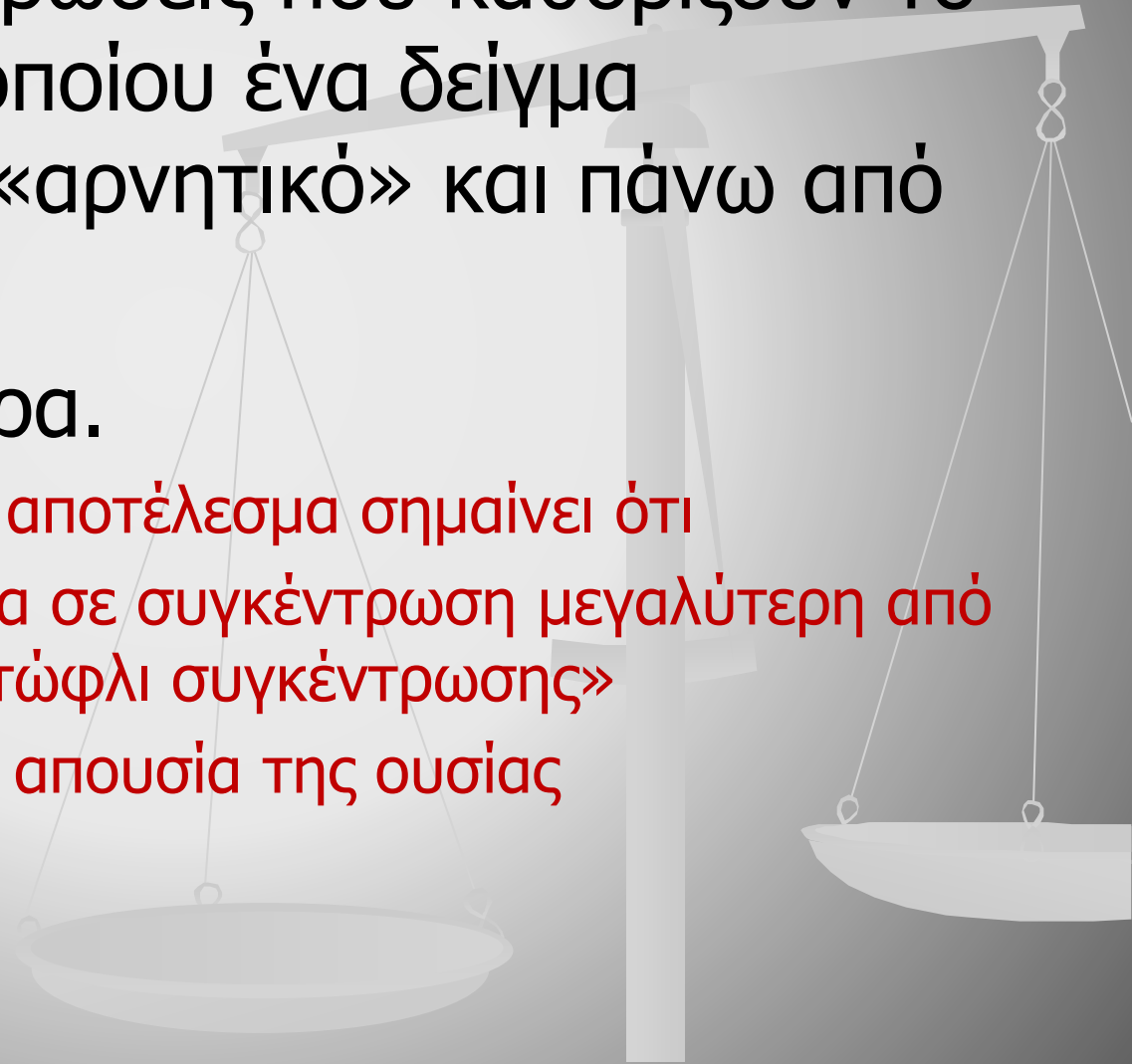
- Ευαίσθητη ανίχνευση διαζεπάμης, τεμαζεπάμης οξαζεπάμης κα
- Λιγότερο ευαίσθητη για τριαζολο-ιμιδαζολο-BZD
  - Αλπραζολάμη, τριαζολάμη, μιδαζολάμη, κα
- Για 7-N-BZD ποικίλλει ευαισθησία
  - Φλουνιτραζεπάμη, νιτραζεπάμη, κλοναζεπάμη



# Κατώφλι ανίχνευσης

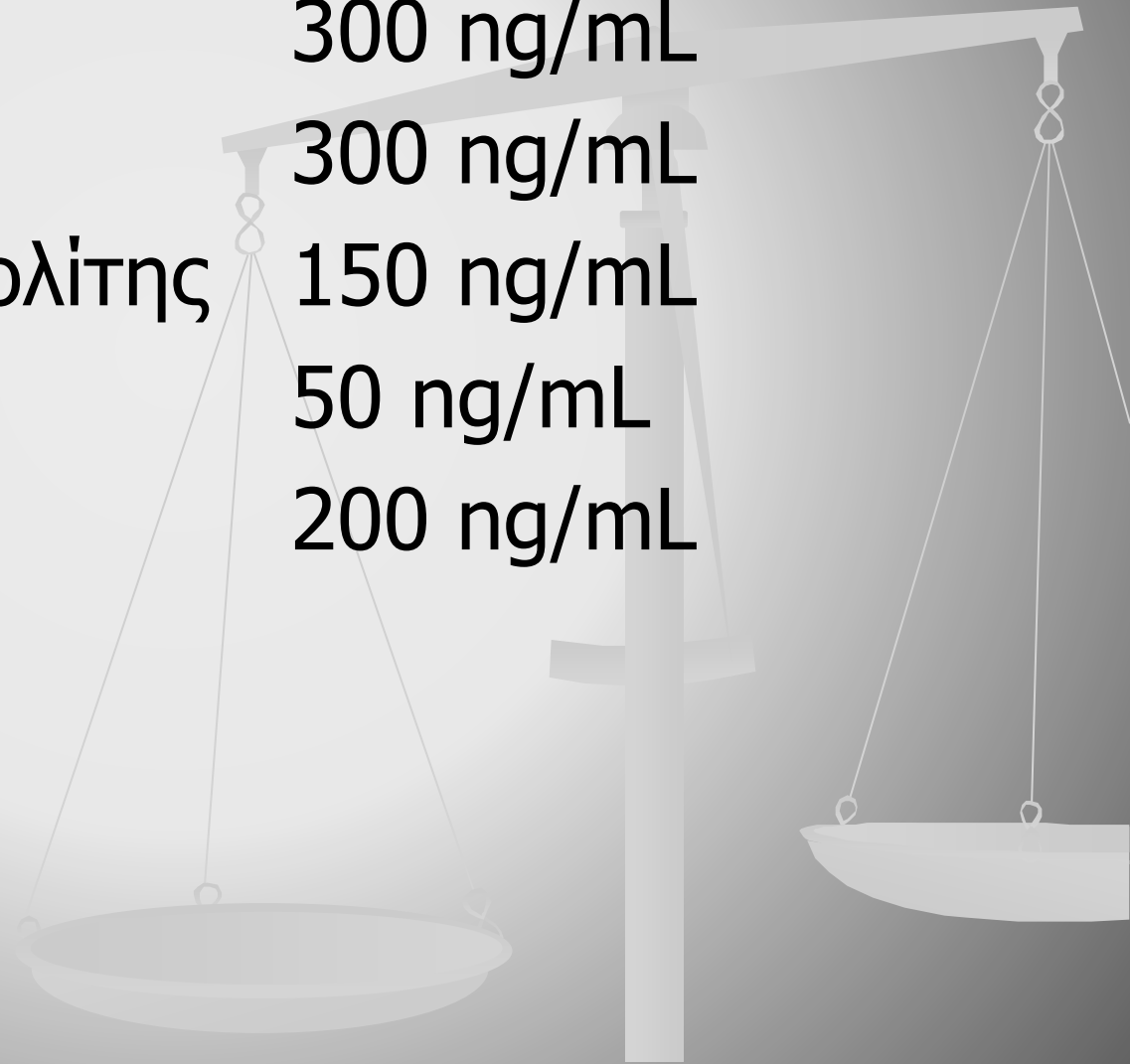
- Είναι οι συγκεντρώσεις που καθορίζουν το όριο κάτω του οποίου ένα δείγμα χαρακτηρίζεται «αρνητικό» και πάνω από αυτό «θετικό».
- Συνήθως για ούρα.

Το αρνητικό αποτέλεσμα σημαίνει ότι δεν ανιχνεύτηκε η ουσία σε συγκέντρωση μεγαλύτερη από το «κατώφλι συγκέντρωσης» και **ΌΧΙ** απουσία της ουσίας



# «Κατώφλι» συγκέντρωσης θετικού δείγματος, ούρα - ΑΧΜ

- Αμφεταμίνες 300 ng/mL
- Οπιούχα 300 ng/mL
- Κοκαΐνη, μεταβολίτης 150 ng/mL
- Κανναβινοειδή 50 ng/mL
- Βενζοδιαζεπίνες 200 ng/mL

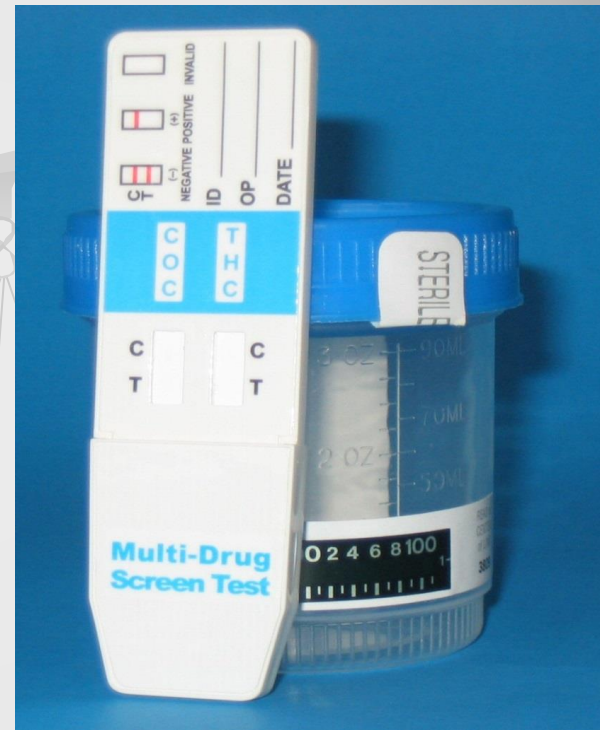




# Υπερ-ταχείες αναλύσεις (rapid tests)

## ■ Ούρα

- Ποικιλία συσκευών
  - 1-6 κατηγορίες ουσιών
  - Μπορεί να γίνεται έλεγχος pH, θερμοκρασίας
  - Έλεγχος για νόθευση
- 
- Αντίστοιχες υπάρχουν για σάλιο
  - Επιβεβαίωση για όλα τα θετικά δείγματα





# ΠΡΟΣΑΝΑΤΟΛΙΣΤΙΚΟΣ/ ΕΠΙΒΕΒΑΙΩΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

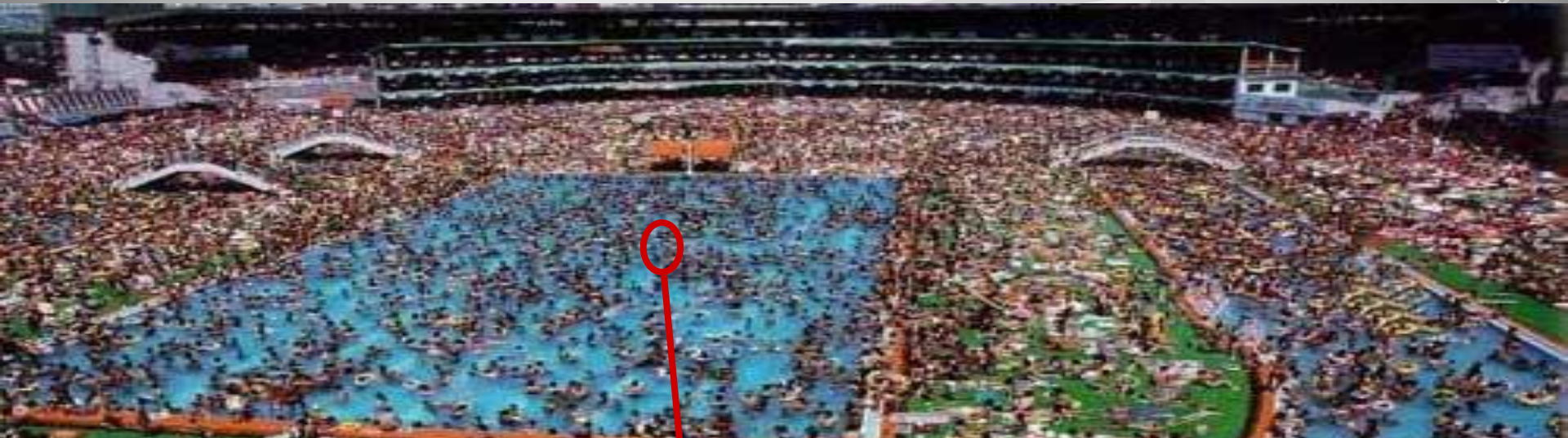


...έρευνα για ταυτοποίηση ατόμου σε μια πισίνα..





Πραγματικότητα..... Ποια η σημασία της?



**Τοξική ουσία**

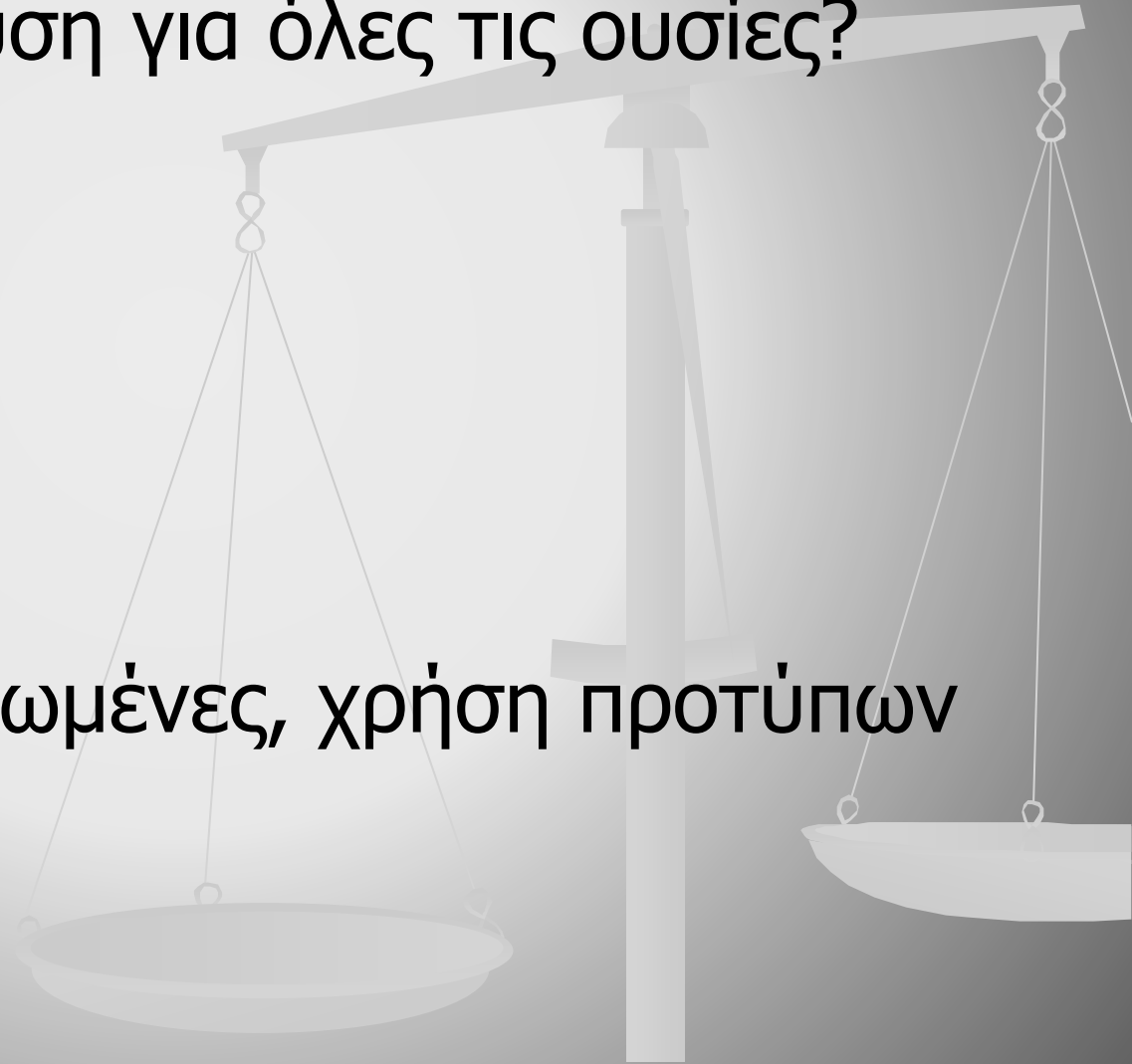
# Αναλυτικές Τεχνικές

- Τα αναλυτικά όργανα θα πρέπει να είναι υψηλής ευαισθησίας, ακρίβειας και αξιοπιστίας.
- Προτείνονται με έμφαση τεχνικές που περιλαμβάνουν ανίχνευση ουσιών με φασματογραφία μαζών, που αποτελεί την πλέον σύγχρονη, ευαίσθητη και αδιαμφισβήτητη μέθοδο ταυτοποίησης μιας χημικής ουσίας. Το φάσμα μάζας μιας ουσίας αποτελεί το «*δακτυλικό της αποτύπωμα*».

**[ Η διαθέσιμη μεθοδολογία εξαρτάται από τις οικονομικές δυνατότητες του εργαστηρίου, τον τόπο που βρίσκεται, τις τοπικές ιδιομορφίες και τις απαιτήσεις των κλινικών γιατρών ]**

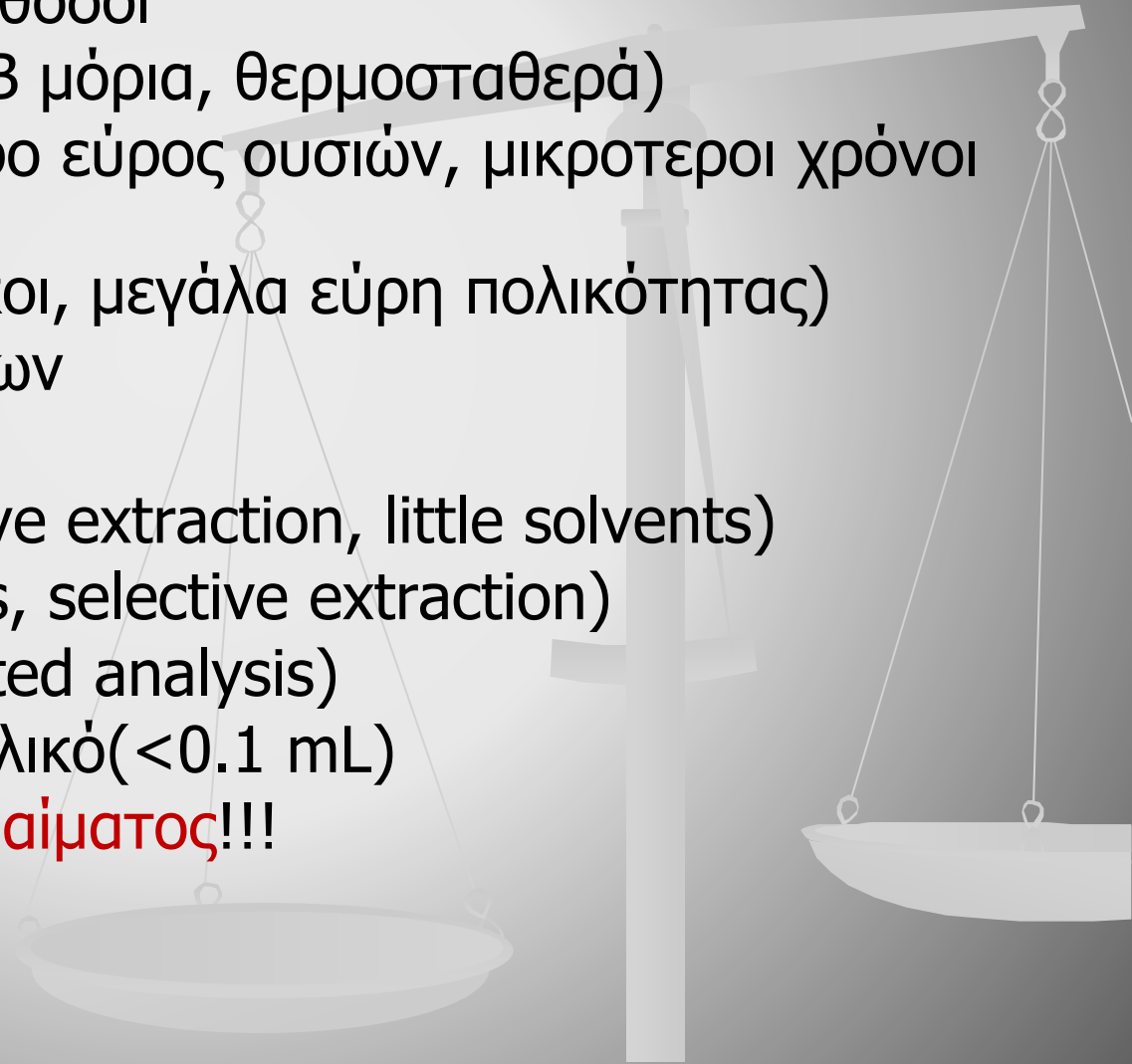
# ΠΟΙΟΤΙΚΗ ή ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

- Ποσοτική ανάλυση για όλες τις ουσίες?
- Αναλόγως,
  - Δικαστικά?
  - Κλινικά?
  - ???
- \* Μέθοδοι επικυρωμένες, χρήση προτύπων ουσιών



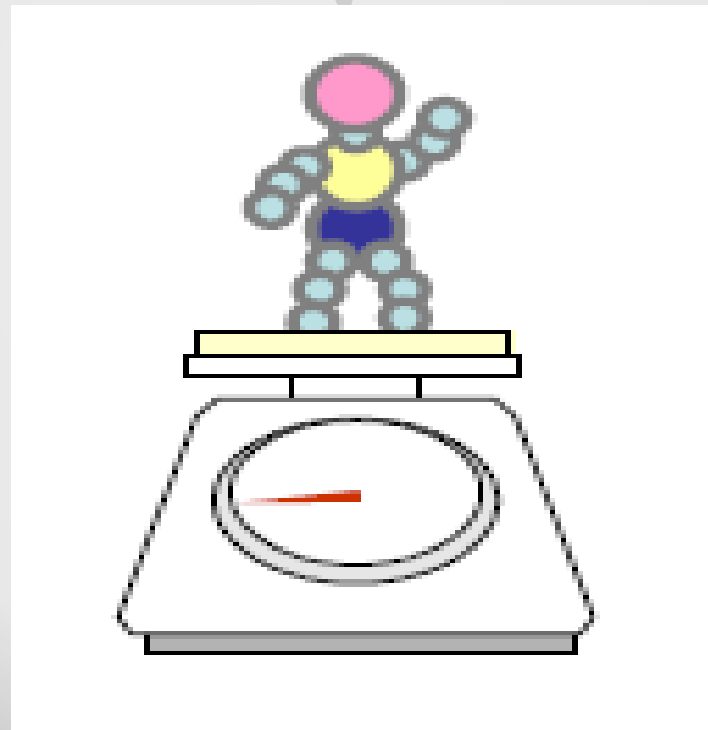
# Αναλυτική Δικαστική Τοξικολογία: παρόν → μέλλον

- Χρωματογραφικές μέθοδοι
  - GC/MS (μικρου ΜΒ μόρια, θερμοσταθερά)
  - LC-MS (μεγαλύτερο εύρος ουσιών, μικρότεροι χρόνοι αναλυσης)
  - CE-MS (μικροί όγκοι, μεγάλα εύρη πολικότητας)
- Επεξεργασία δειγμάτων
  - LLE (κλασσική)
  - SPE (more selective extraction, little solvents)
  - SPME (no solvents, selective extraction)
  - Robotics (automated analysis)
- Λιγότερο βιολογικό υλικό (<0.1 mL)
  - **Ανάλυση κηλίδων αίματος!!!**



# Γιατί φασματομετρία μάζας?

- “ΟΡΓΑΝΟ” «ζύγισης» μορίων σε μορφή ιόντων

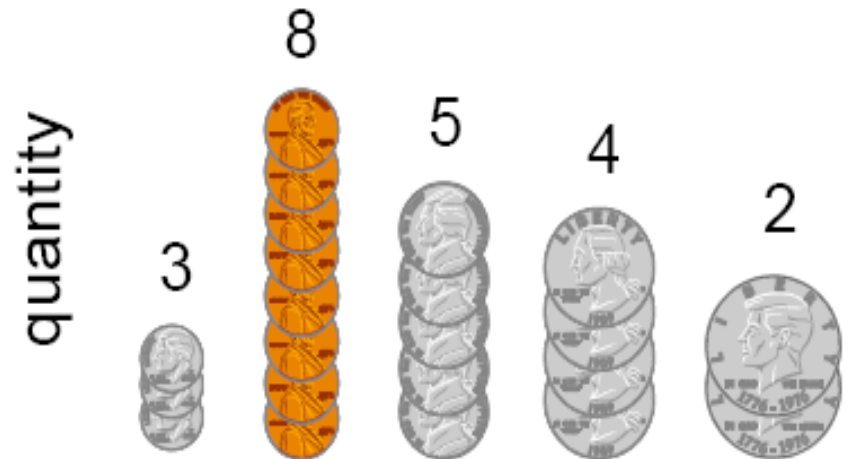




# Mass analysis

## ● Sorting and Counting

- *Pocket change (mixture of coins)*
- *Penny, dime, nickel, quarter, half \$*
- *Sorting change by value or size*
- *Concept of visual interpretation*
- *Mixture of molecules*
- *Molecules of different weight, size*
- *Separation by mass*
- *spectrum*



# Περιορισμοί στην τοξικολογική ανάλυση

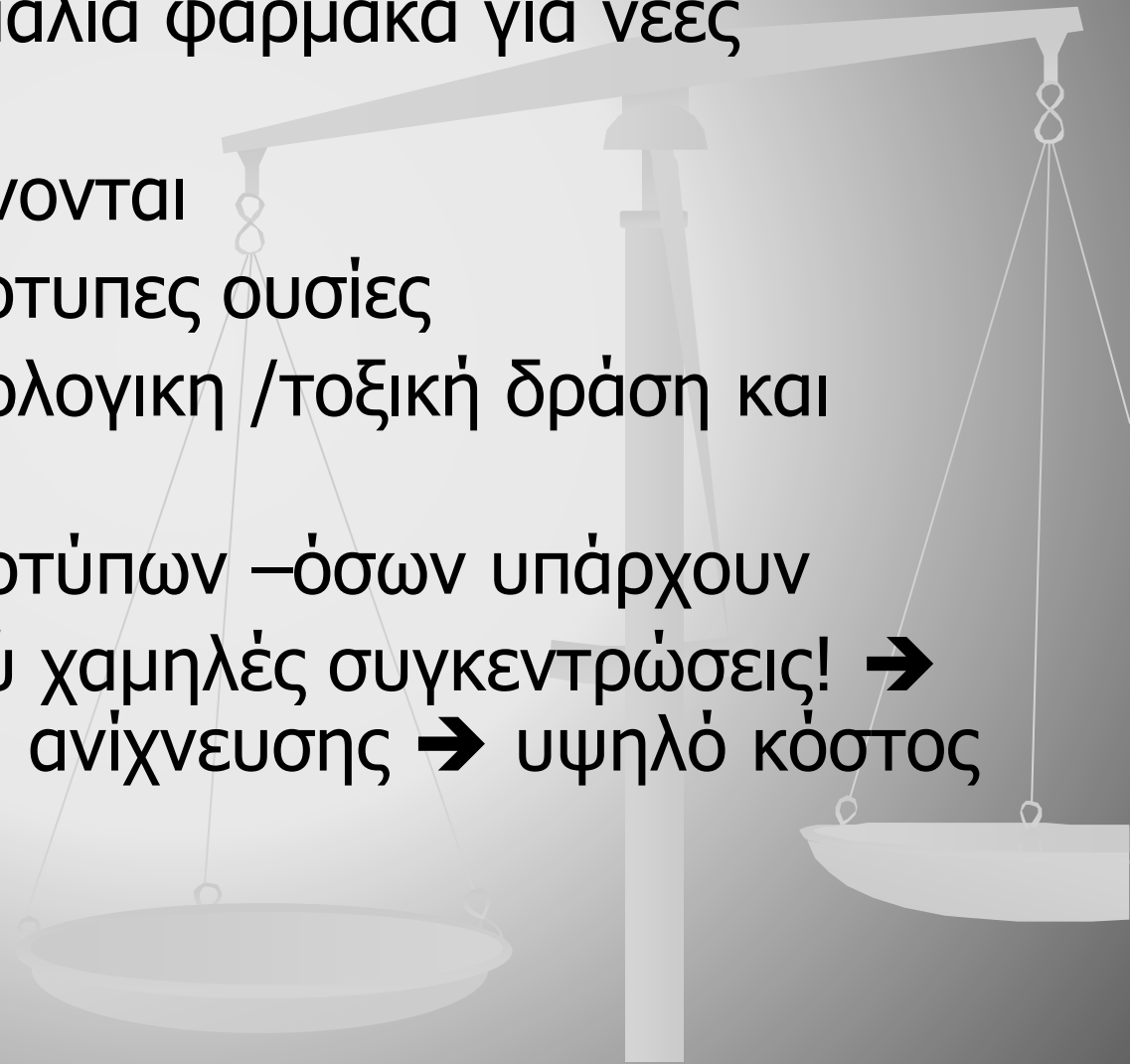
- **Δυνατότητα ανάλυσης περιορισμένου αριθμού ουσιών, ανάλογα με το εργαστήριο**
- Αναλύσεις για ειδικές τοξικές ουσίες πρέπει να ζητούνται σαφώς προκειμένου να αναζητηθούν στα δείγματα, εφόσον είναι δυνατόν
  - Πχ GHB, κεταμίνη, βουπρενορφίνη, φεντανυλη κλπ

Και....



# Νέες ψυχοδραστικές ουσίες... → νέες αναλυτικές προκλήσεις

- Νέες φάρμακα ή παλιά φάρμακα για νέες θεραπείες
- 600 NPS και αυξάνονται
- Δεν υπάρχουν πρότυπες ουσίες
- Άγνωστη φαρμακολογική /τοξική δράση και φαρμακοκινητική
- Υψηλό κόστος προτύπων –όσων υπάρχουν
- Δραστικές σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις! → υψηλή ευαισθησία ανίχνευσης → υψηλό κόστος οργανολογίας







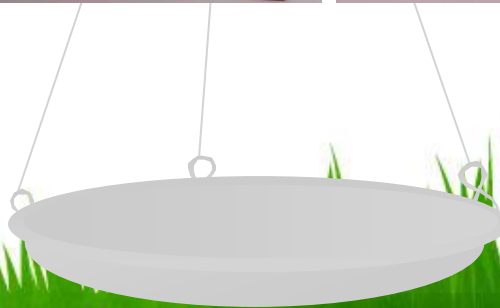
NORTHERN LIGHTS  
 PRIMO  
 7 GRAMS \$158



Βασίλκη Μπούρα, Τμήμα Ιατρικής  
 ΑΠΘ 9-4-2017

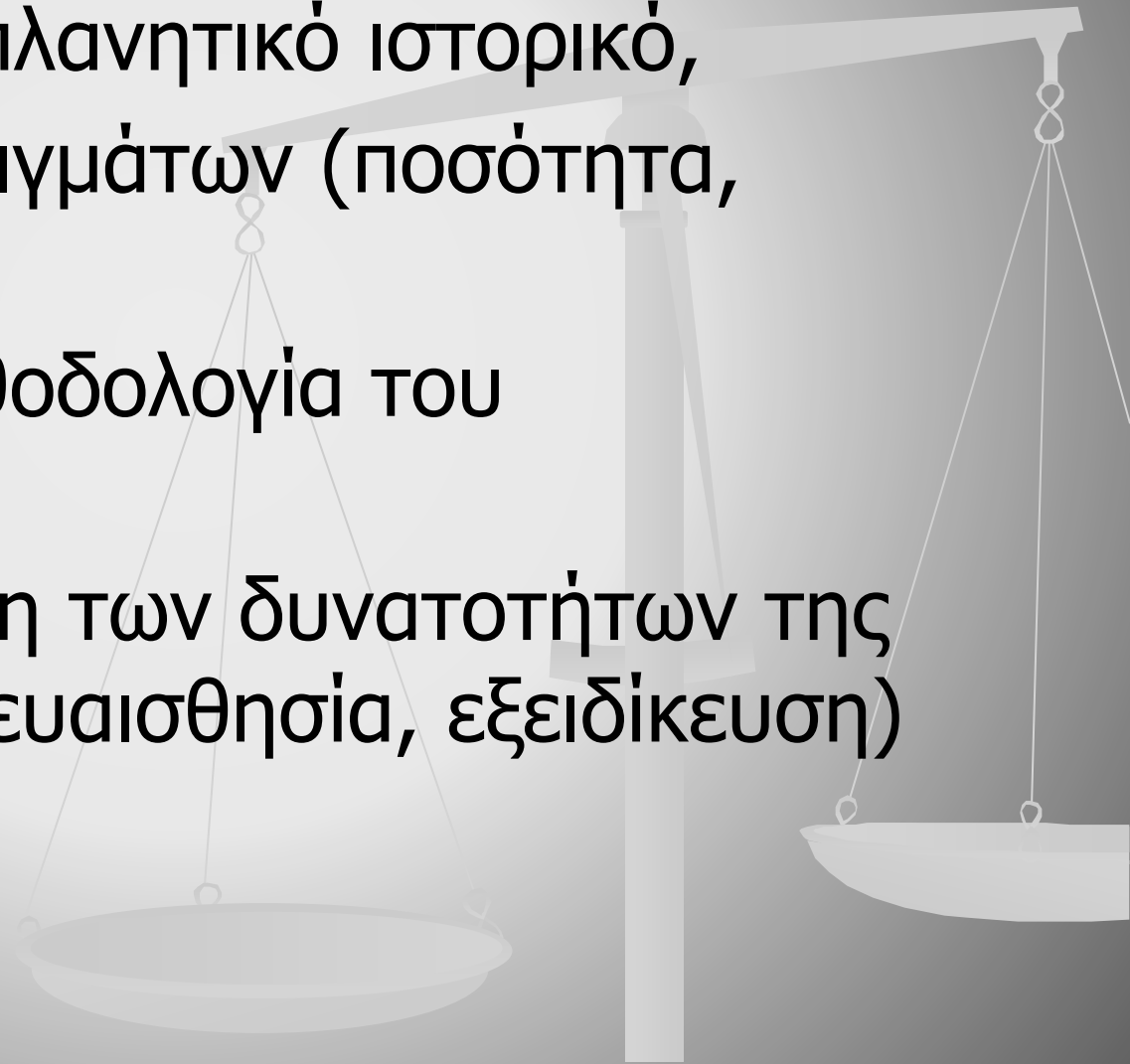


# USA Derivations

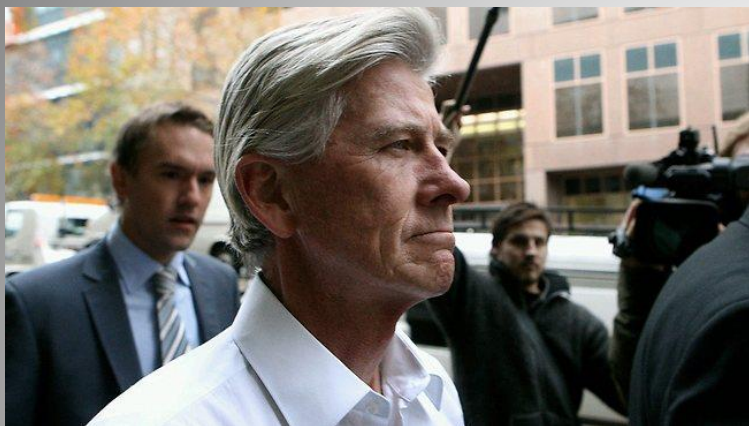


# Παράγοντες που Επηρεάζουν την Τοξικολογική Ανάλυση

- Ελλιπές ή παραπλανητικό ιστορικό,
- Το είδος των δειγμάτων (ποσότητα, κατάσταση),
- Η διαθέσιμη μεθοδολογία του εργαστηρίου,
- Η ακριβής γνώση των δυνατοτήτων της κάθε μεθόδου (ευαισθησία, εξειδίκευση)



# Παράδειγμα: αποτυχημένη ανάλυση ή όχι?



## DR JAMES LATHAM PETERS

- ❑ 55 γυναίκες μολυνθηκαν με τον ιο της ηπατίτιδας C από τον ίδιο-αναισθησιολόγος
- ❑ με την ίδια σύριγγα που είχε χρησιμοποιήσει αυτός για να κάνει χρήση φεντανυλης (fentanyl)
- ❑ Εθισμένος χρήστης!

- 1973** Registered as a medical practitioner
- 1979** Qualified as anaesthetist
- 1991** Married second wife, a drug addict
- 1994** Started issuing fake prescriptions to feed his and his wife's drug problems
- 1995** Wrote to the medical board to declare his drug problem.
- 1996** Registration suspended for a year. Given six month suspended jail term forged and false prescriptions, possessing and using a drug of dependence.
- 1997** Health department told of his Hep C status, but not medical board. Re-registered to practice.
- 2003** Drug relapse after death of his wife
- 2004** Diagnosed with cancer. Employed at Croydon Day Surgery.
- 2008** Infects first patients at the clinic.
- 2010** Police and Health Department investigations begin

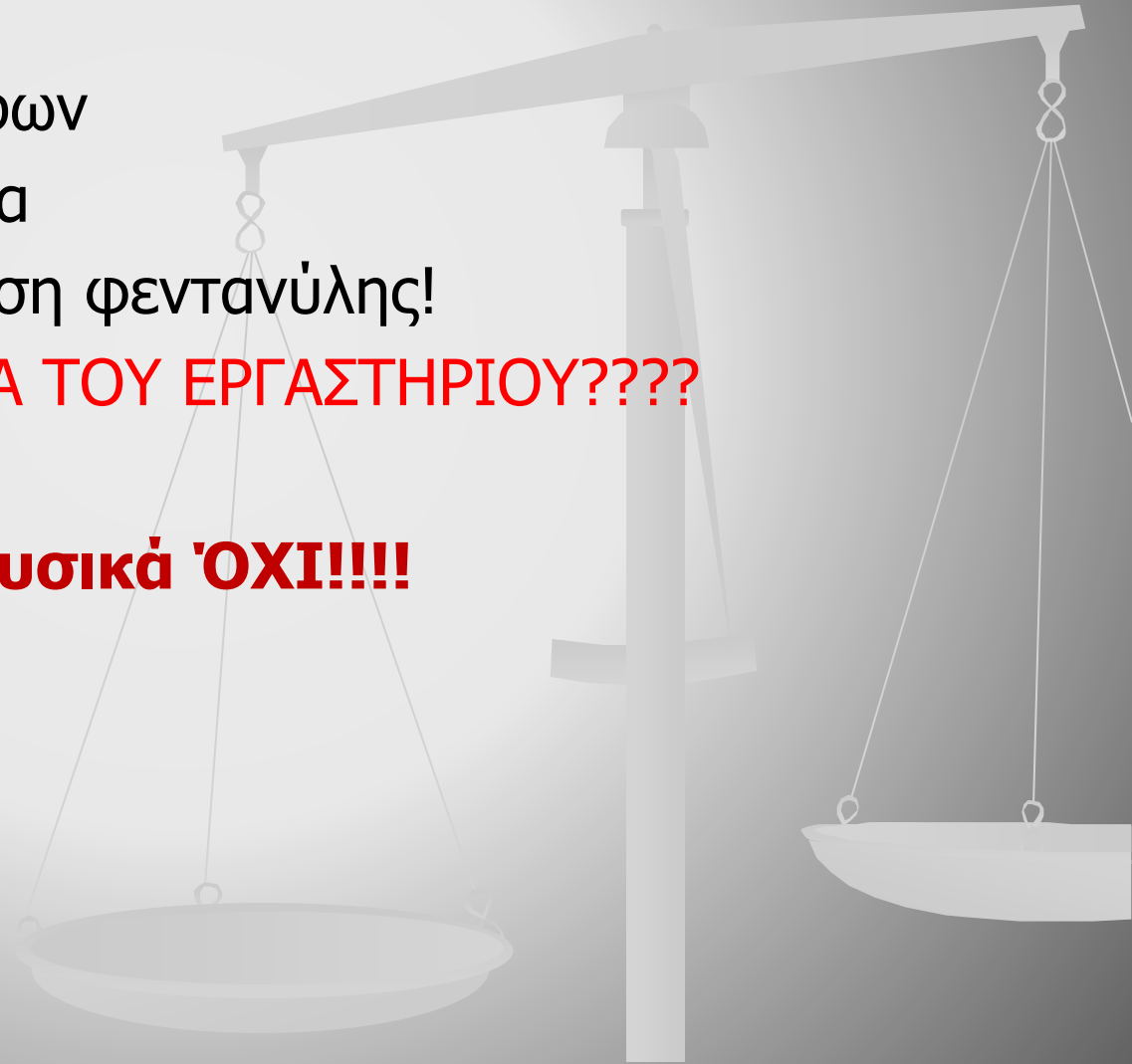




# Τοξικολογική εξέταση?

- Χρήστης φεντανύλης
- Τακτικός έλεγχος ούρων
- Αρνητικός για οπιούχα
- ΔΕΝ ζητήθηκε ανάλυση φεντανύλης!
  - **ΑΠΟΤΥΧΙΑ ΤΟΥ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ????**

**Φυσικά ΌΧΙ!!!!**





# Αιτίες μη ανίχνευσης μιας τοξικής ουσίας

- *Ανάλυση με καθυστέρηση, πλήρης μεταβολισμός του δηλητηρίου*
- *Κακή / ακατάλληλη συντήρηση*
- *Μη κατάλληλη μεθοδολογία ανίχνευσης*
- *Μη ανιχνεύσιμη ποσότητα του δηλητηρίου*
- *Απουσία μεθόδου ανίχνευσης του δηλητηρίου*
- *Ανάλυση άλλου δείγματος*
- *Δεν αναζητήθηκε η «**ένοχη**» τοξική ουσία*

κλπ

# **ΔΙΚΑΣΤΙΚΗ ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑ**

## **Β' ΜΕΡΟΣ**

### **ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΝΕΚΡΟΤΟΜΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ**



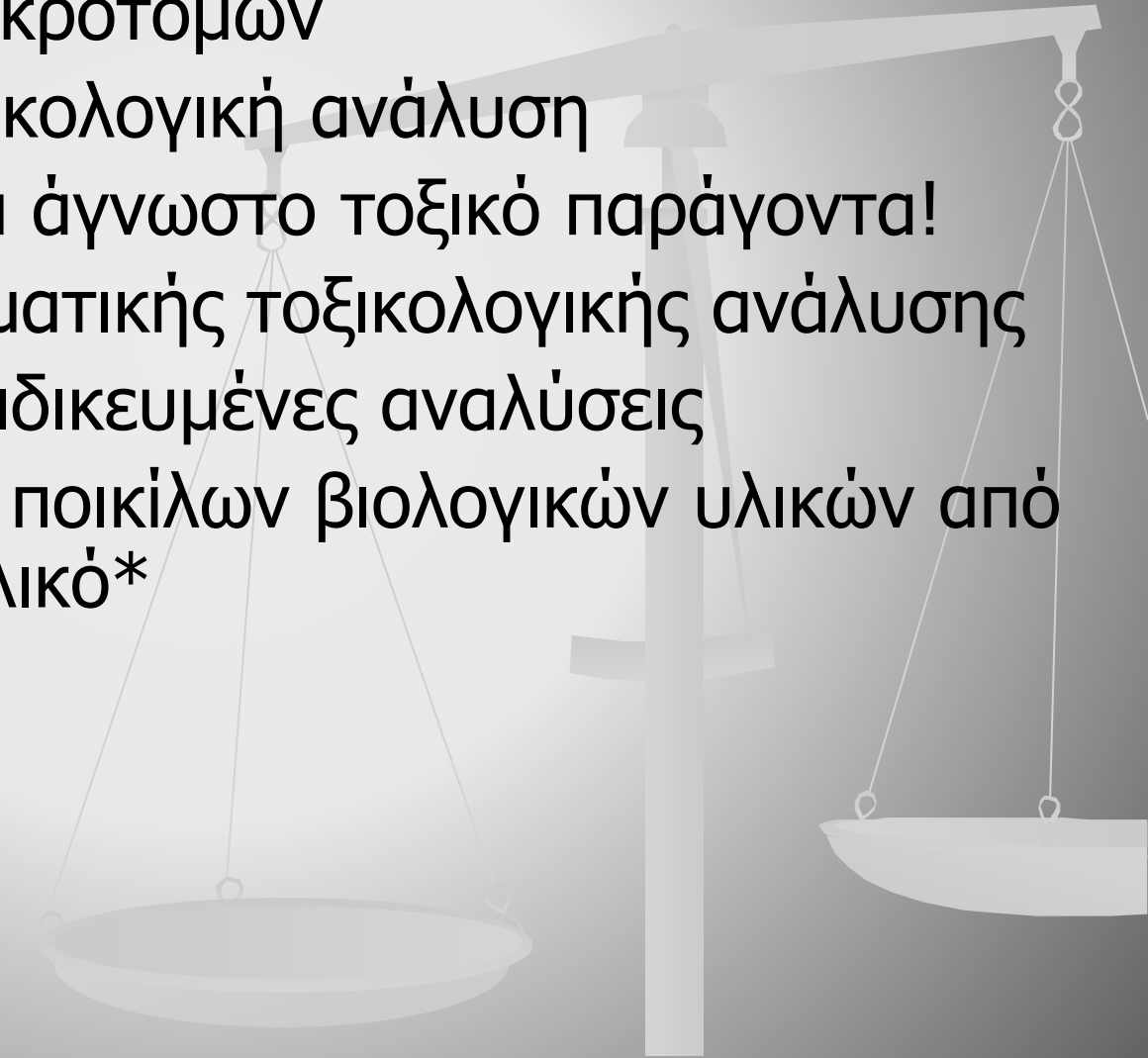
**Δ.Τ.:** Συμβολή στην Διερεύνηση αιτιών θανάτου  
ως συμβολή στην εξιχνίαση του τριπτύχου:

- ✓ **Ατύχημα -**
- ✓ **Αυτοκτονία -**
- ✓ **Ανθρωποκτονία**

(ευθύνη του Ιατροδικαστή)

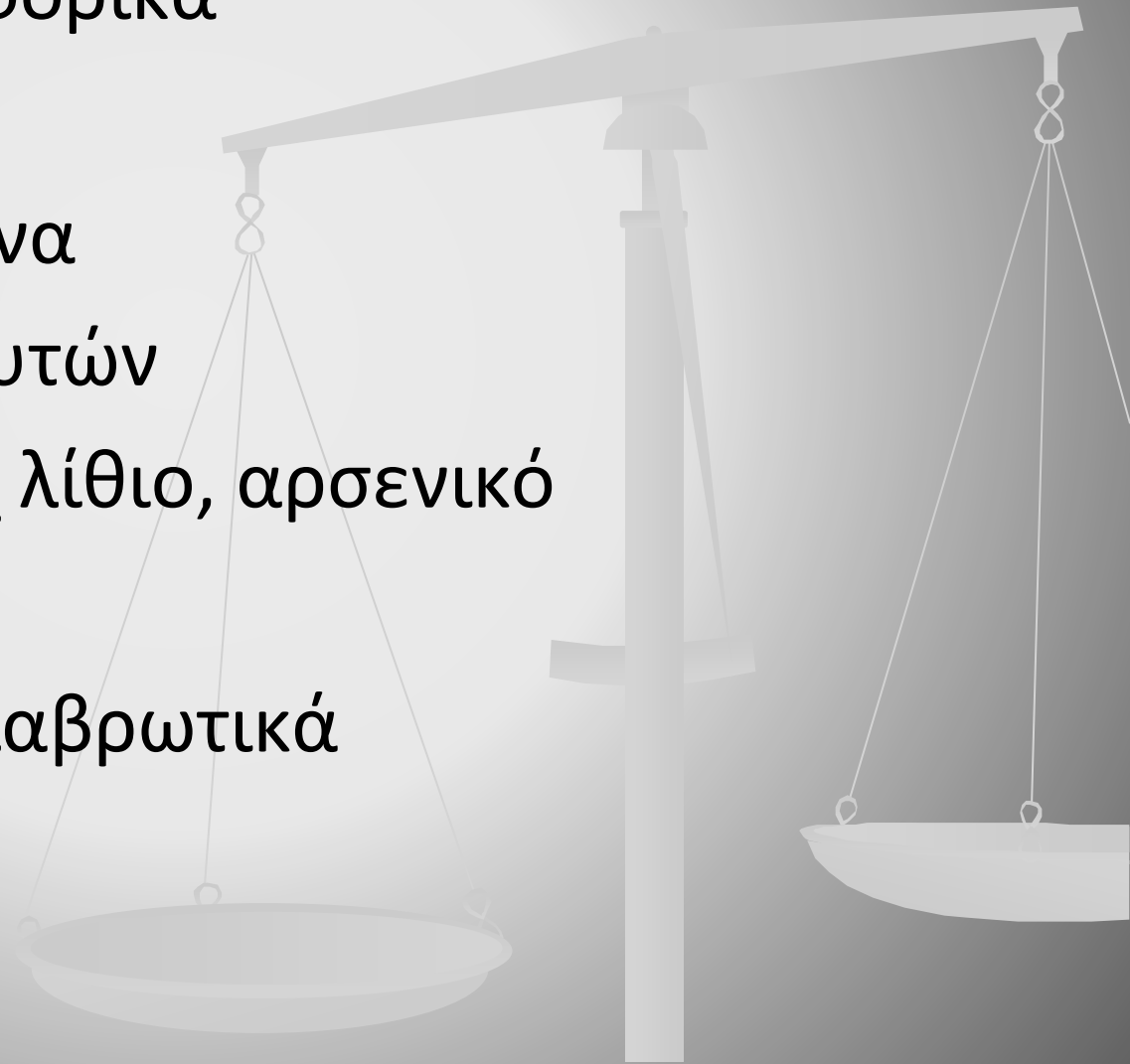
# Ανάλυση νεκροτομικού υλικού

- Περιστατικά νεκροτομών
- Περίπλοκη τοξικολογική ανάλυση
- Διερεύνηση για άγνωστο τοξικό παράγοντα!
- Ανάγκη συστηματικής τοξικολογικής ανάλυσης
- Ανάγκη για εξειδικευμένες αναλύσεις
- Διαθεσιμότητα ποικίλων βιολογικών υλικών από νεκροτομικό υλικό\*



# «Μη κοινά» δηλητήρια

- Οργανοφωσφορικά
- Διαλύτες
- Παρασιτοκτόνα
- Δηλητήρια φυτών
- Μέταλλα– πχ λίθιο, αρσενικό
- Κυανιούχα
- Καυστικά / διαβρωτικά
- κλπ



# Δειγματοληψία κατά τη N-N

(ανάλογα με το περιστατικό)

Βιολογικό Υλικό	Αναζητούμενα Δηλητήρια
Αίμα (20 ml)	Όλα + μεταβολίτες
Ούρα (όλα)	Κυρίως μεταβολίτες
Στομαχικό περιεχόμενο (όλο)	Σε οξείες δηλητηριάσεις
Υαλοειδές υγρό	οινόπνευμα
Χολή (όλη)	Οπιούχα και οινόπνευμα
Ήπαρ (500 g)	Όλα + μεταβολίτες
Τριχες (>100 mg)	Ιστορικό χρήσης
Νεφρός (ένας)	Βαρέα μέταλλα
Εγκέφαλος	Κατασταλτικά ΚΝΣ
Πνεύμονας (ένας)	Πτητικά και αέρια

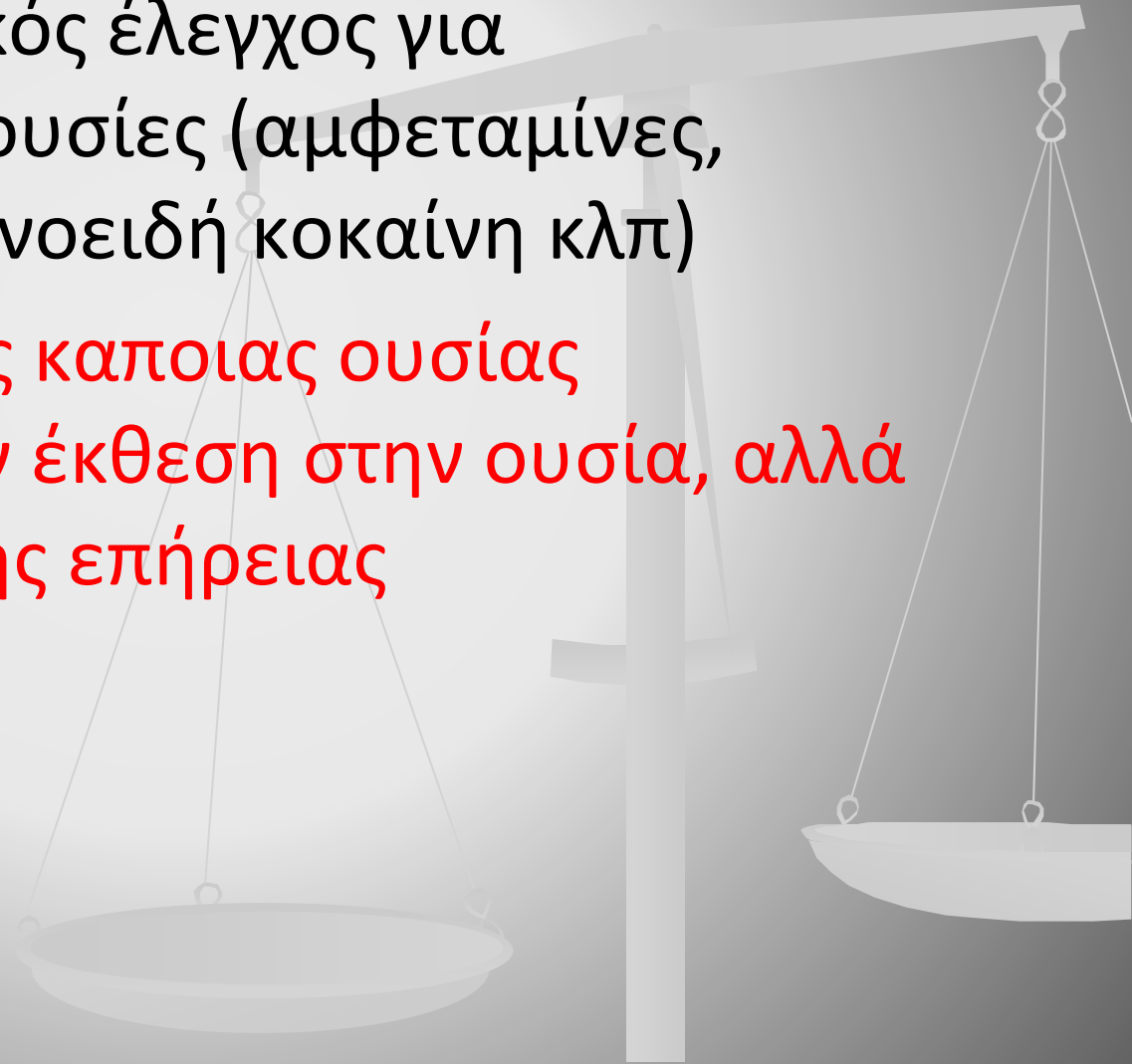
# Αίμα\*

- Προτιμητέο!
- Επιτρέπει **κάποια** συσχέτιση συγκεντρώσεων με αντίστοιχες σε κλινικά πιστατικά
- Περιφερειακές θέσεις (**μηριαία**) παρά κεντρικές (καρδια κλπ)
- Οι συγκεντρώσεις φαρμάκων μπορεί να μεταβληθούν μετά τον θάνατο σε σχέση με την στιγμή του θανάτου\*

**\*Συλλογή σε περιέκτες  
με συντηρητικό (φθοριούχα – KF) και αντιπηκτικό**

# Ούρα

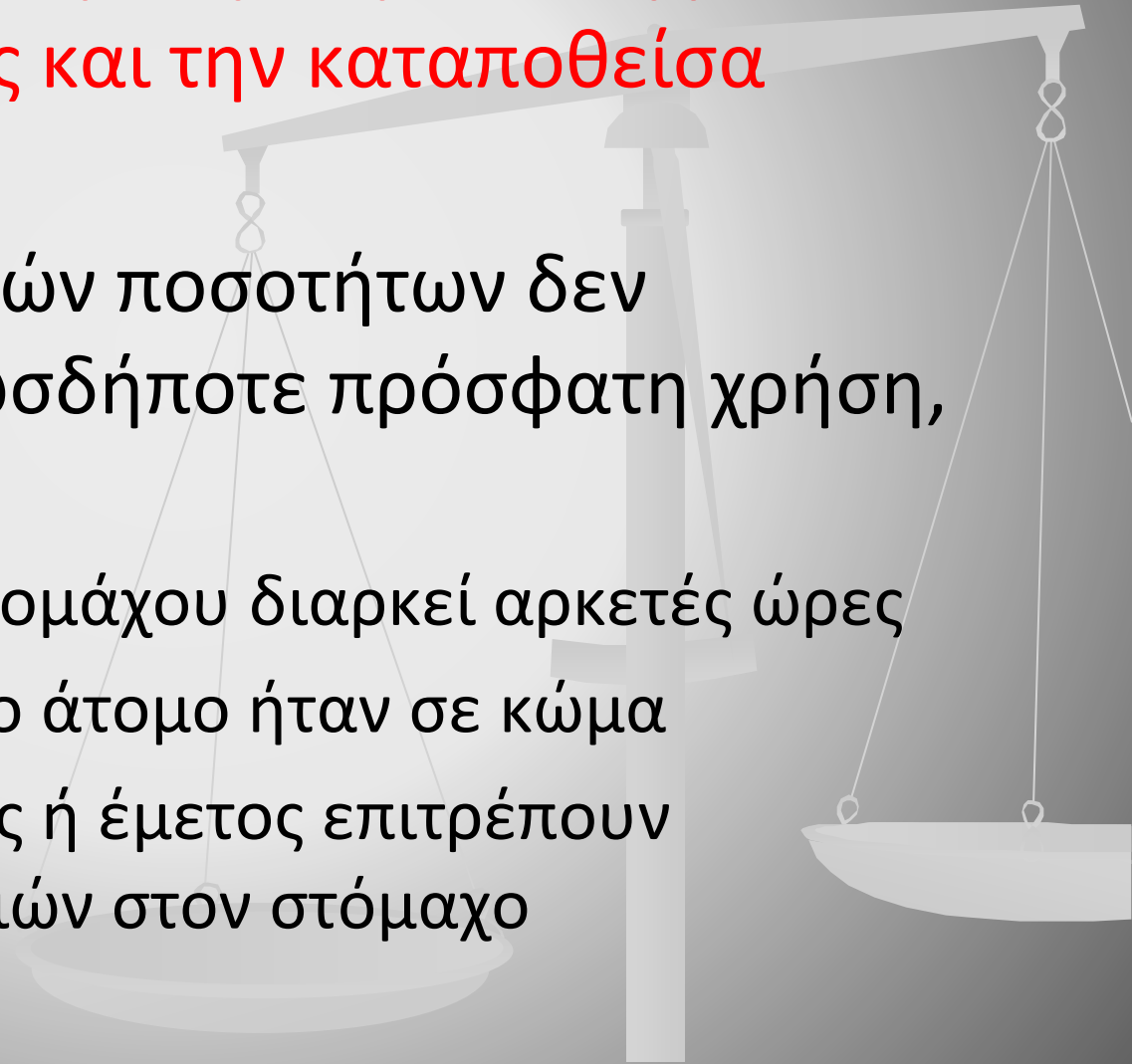
- Προσανατολιστικός έλεγχος για εξαρτησιογόνες ουσίες (αμφεταμίνες, οπιούχα κανναβινοειδή, κοκαΐνη κλπ)
- Ο προσδιορισμός καποιας ουσίας επιβεβαιώνει την έκθεση στην ουσία, αλλά όχι την έκταση της επήρειας





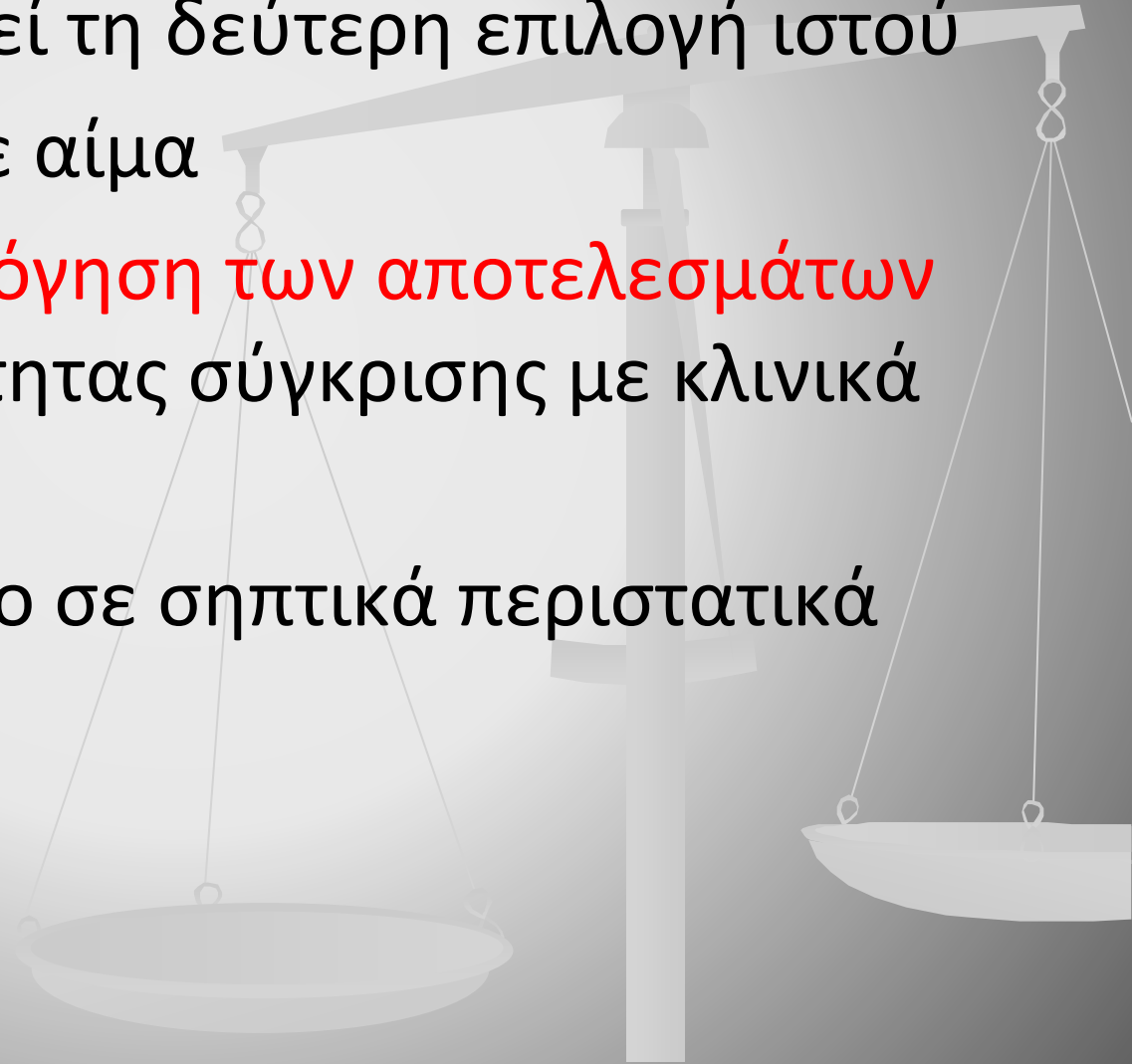
# Στομαχικό περιεχόμενο

- Καταδεικνύει την πρόσφατη έκθεση με καταποση ουσίας και την καταποθείσα ποσότητα
- Η παρουσία μικρών ποσοτήτων δεν υποδεικνύει οπωσδήποτε πρόσφατη χρήση, αφού
  - Η κένωση του στομάχου διαρκεί αρκετές ώρες
  - Ή και μέρες αν το άτομο ήταν σε κώμα
  - Χολικές εκκρίσεις ή έμετος επιτρέπουν επαναφορά ουσιών στον στόμαχο



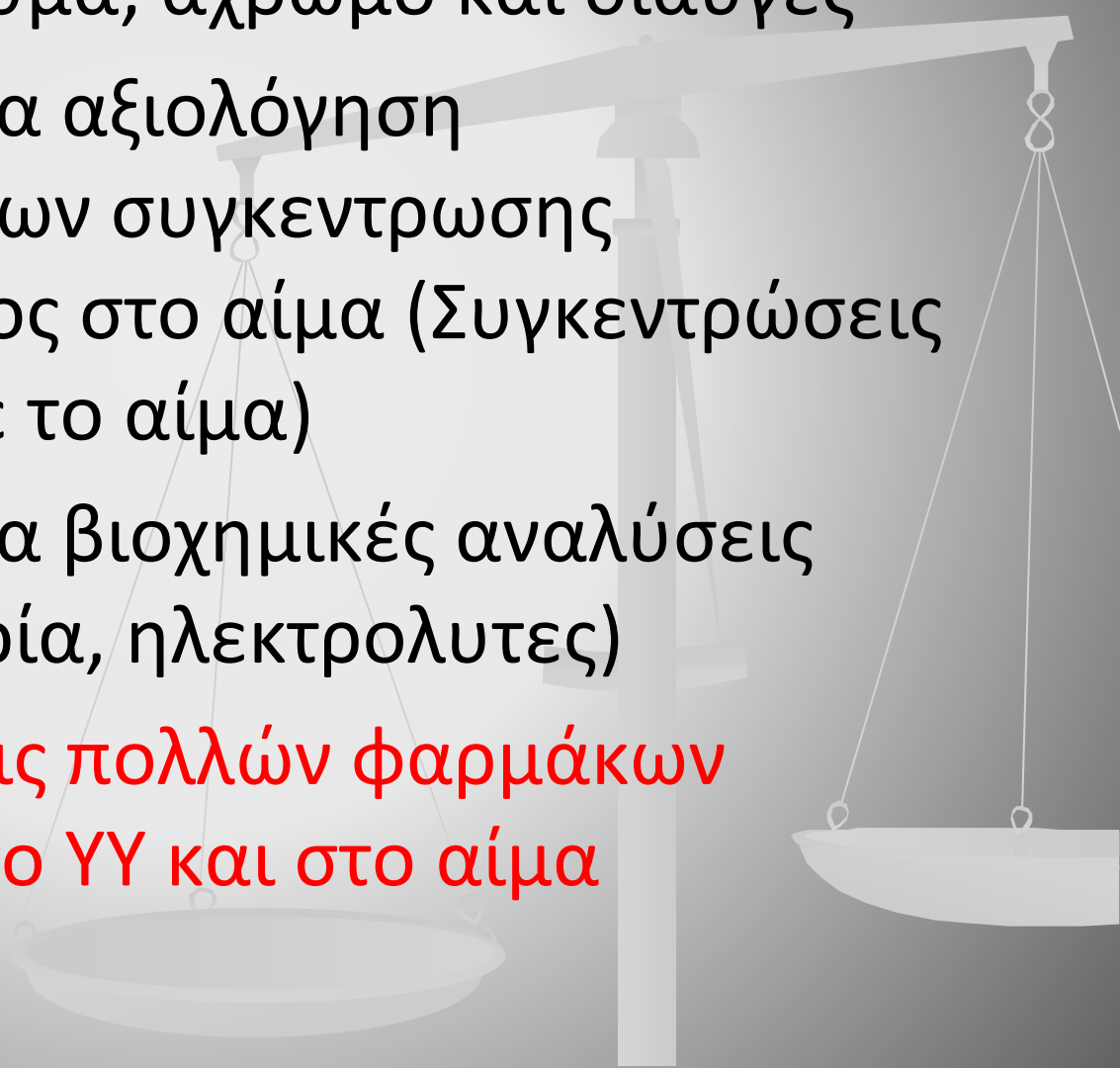
# Ήπαρ

- Συνήθως αποτελεί τη δεύτερη επιλογή ιστού
- Σε συνδυασμό με αίμα
- **Δύσκολη η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων** λόγω μη δυνατότητας σύγκρισης με κλινικά στοιχεία
- Ιδιαίτερα χρήσιμο σε σηπτικά περιστατικά

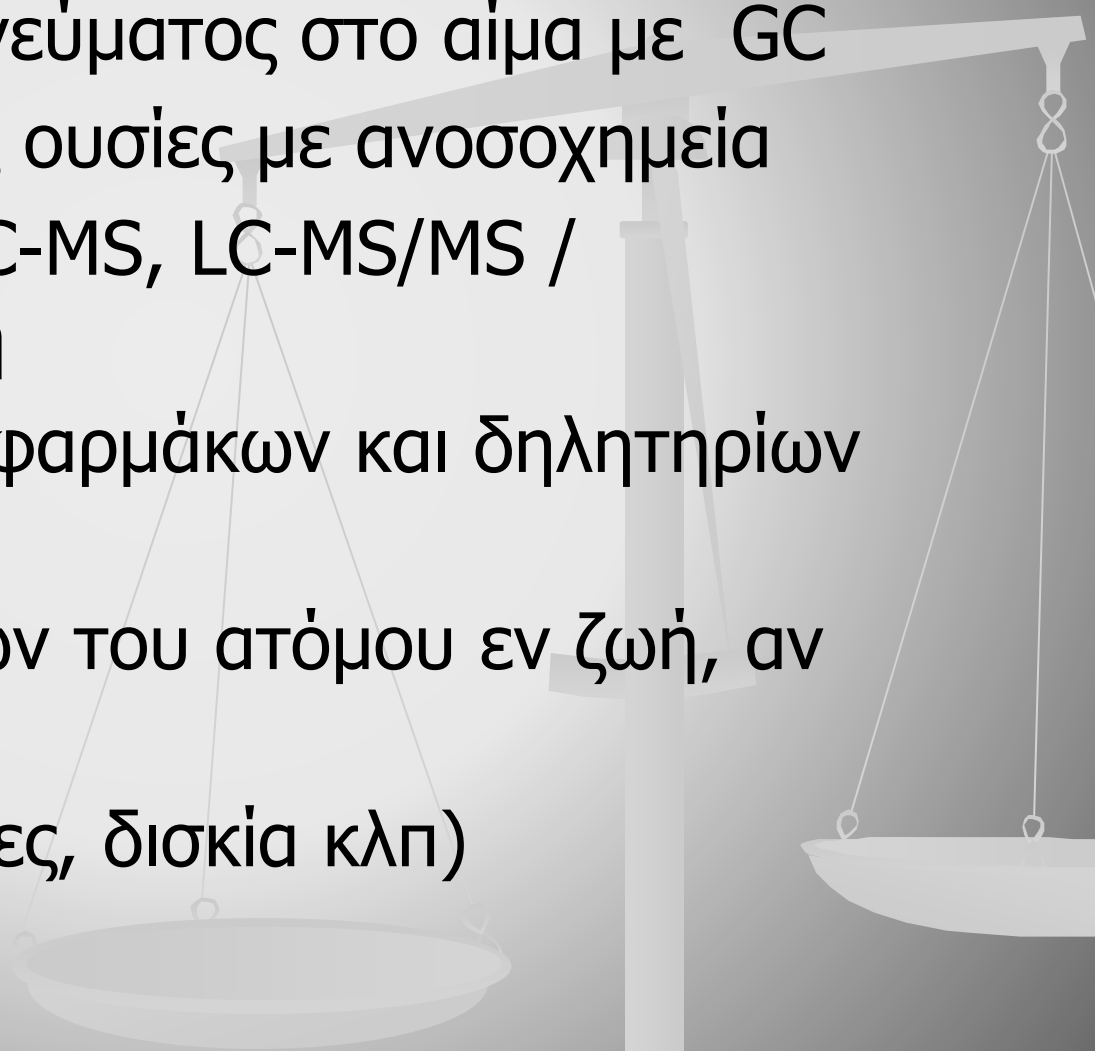


# Υαλοειδές υγρό

- Υδατικό διαλυμα, αχρωμο και διαυγές
- Κατάλληλο για αξιολόγηση αποτελεσμάτων συγκέντρωσης οινόπνευματος στο αίμα (Συγκεντρώσεις παρόμοιες με το αίμα)
- Κατάλληλο για βιοχημικές αναλύσεις (γλυκόζη, ουρία, ηλεκτρολύτες)
- Συγκεντρώσεις πολλών φαρμάκων παρόμοιες στο ΥΥ και στο αίμα

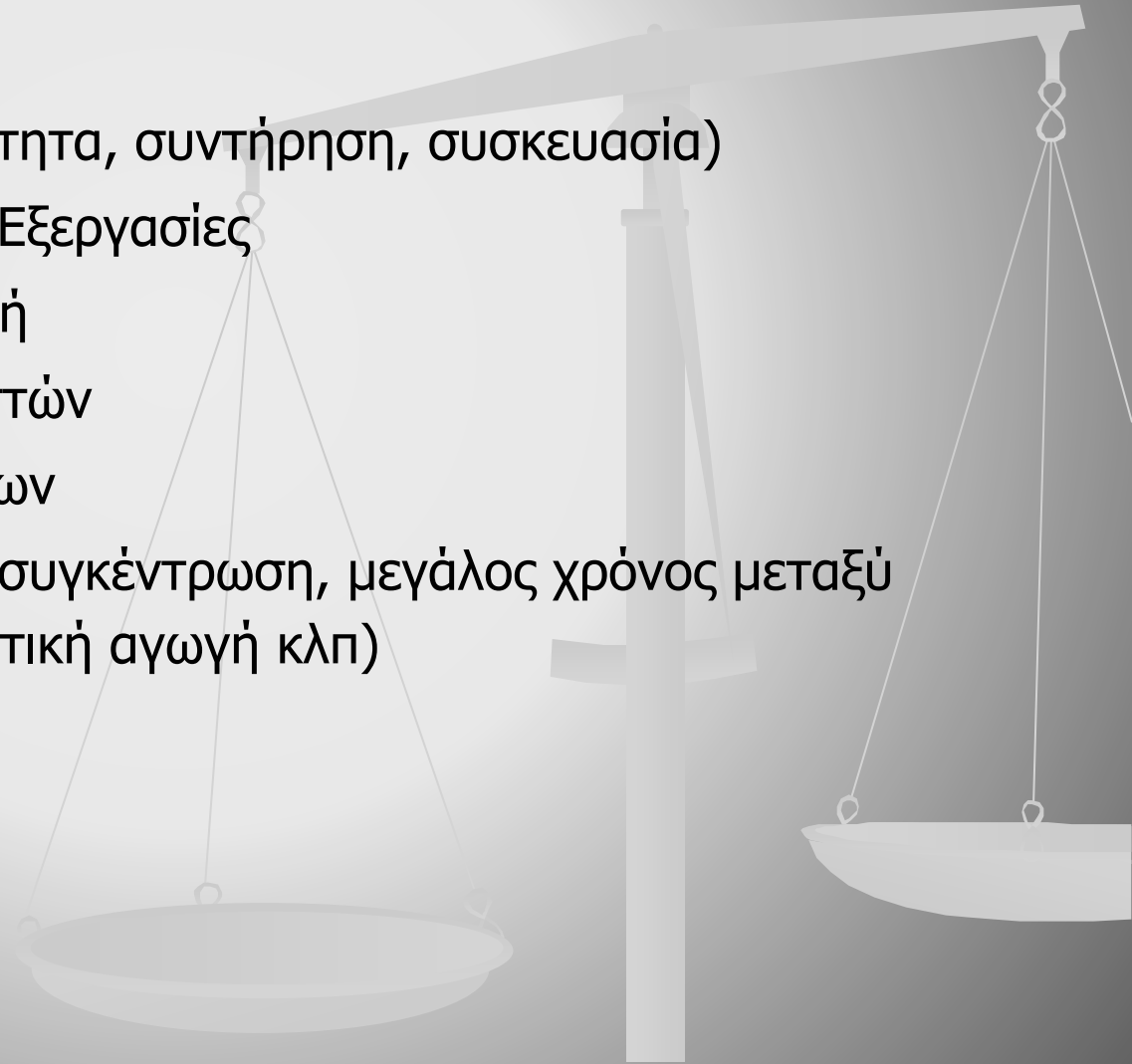


# Σχεδιασμός τοξικολογικής εξέτασης (Αιφνίδιοι και βιαίοι θάνατοι)

- Ανάλυση οινόπνεύματος στο αίμα με GC
  - Εξαρτησιογόνες ουσίες με ανοσοχημεία
  - screening με GC-MS, LC-MS/MS / ποσοτικοποίηση
  - Αναλύσεις άλλων φαρμάκων και δηλητηρίων κατά την εντολή
  - Ανάλυση δειγμάτων του ατόμου εν ζωή, αν υπάρχουν
  - Πειστήρια (σύριγγες, δισκία κλπ)
- 

# Περιορισμοί/ Δυσχέρειες κατά την Τοξικολογική Ανάλυση ΝΥ λόγω

1. Έλλειψη Πληροφοριών
2. Επιλογή δειγμάτων (ποσότητα, συντήρηση, συσκευασία)
3. Αυτολυτικές και Σηπτικές Εξεργασίες
4. Μεταθανάτια Ανακατανομή
5. Ταρίχευση/ Συντήρηση Ιστών
6. Αποθήκευση των Δειγμάτων
7. Ανάλυση (μέθοδοι, μικρή συγκέντρωση, μεγάλος χρόνος μεταξύ λήψης-θανάτου, θεραπευτική αγωγή κλπ)



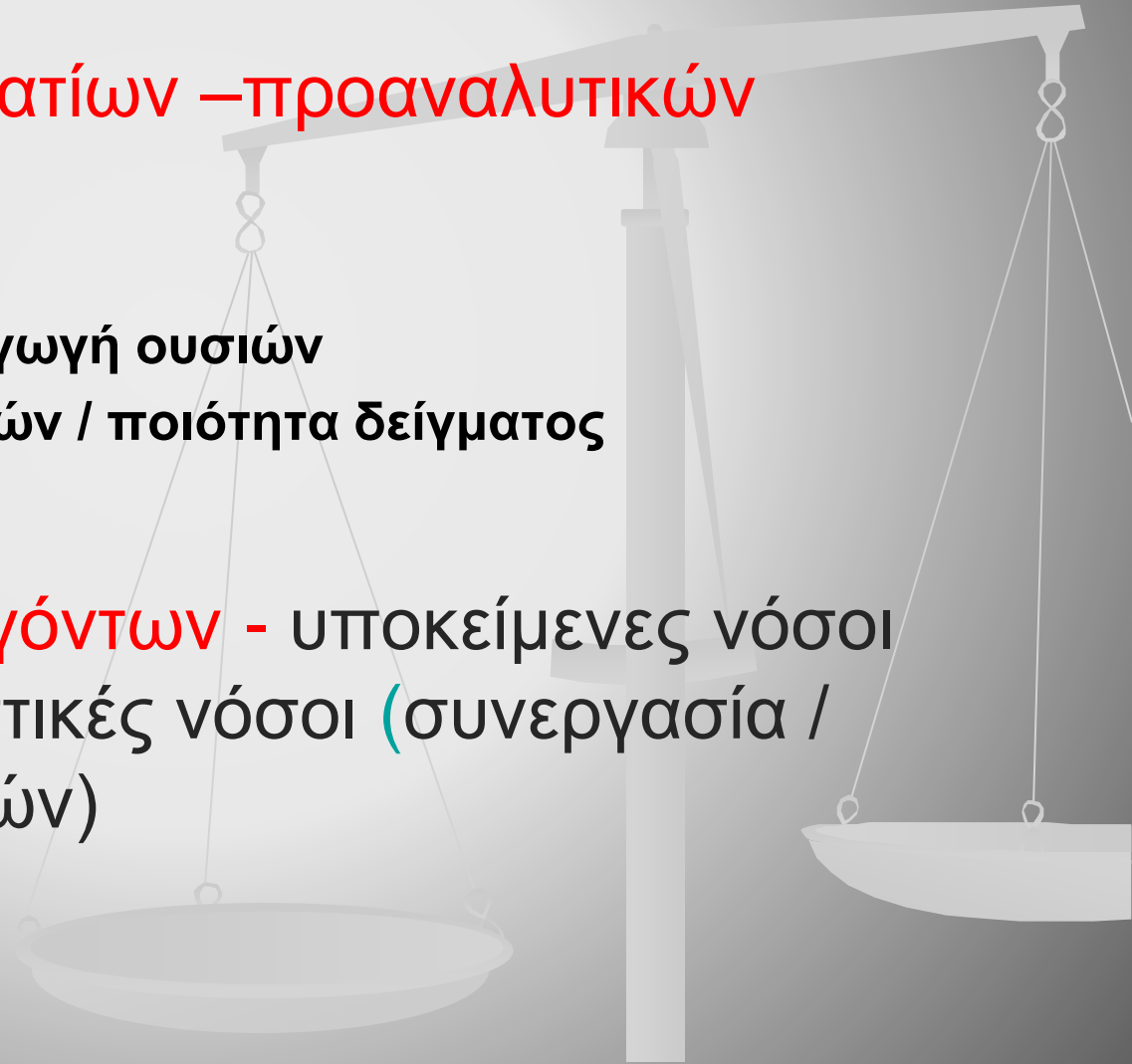
# Τοξικολογική Ανάλυση ΝΥ

Δυσχερής λογω

Επίδρασης μεταθανατίων –προαναλυτικών παραγόντων

- i. Ανακατανομή
- ii. Διάσπαση / Παραγωγή ουσιών
- iii. Σταθερότητα ουσιών / ποιότητα δείγματος

Παθολογικών παραγόντων - υποκείμενες νόσοι  
πχ καρδιοαναπνευστικές νόσοι (συνεργασία /  
ευθύνη ιατροδικαστών)

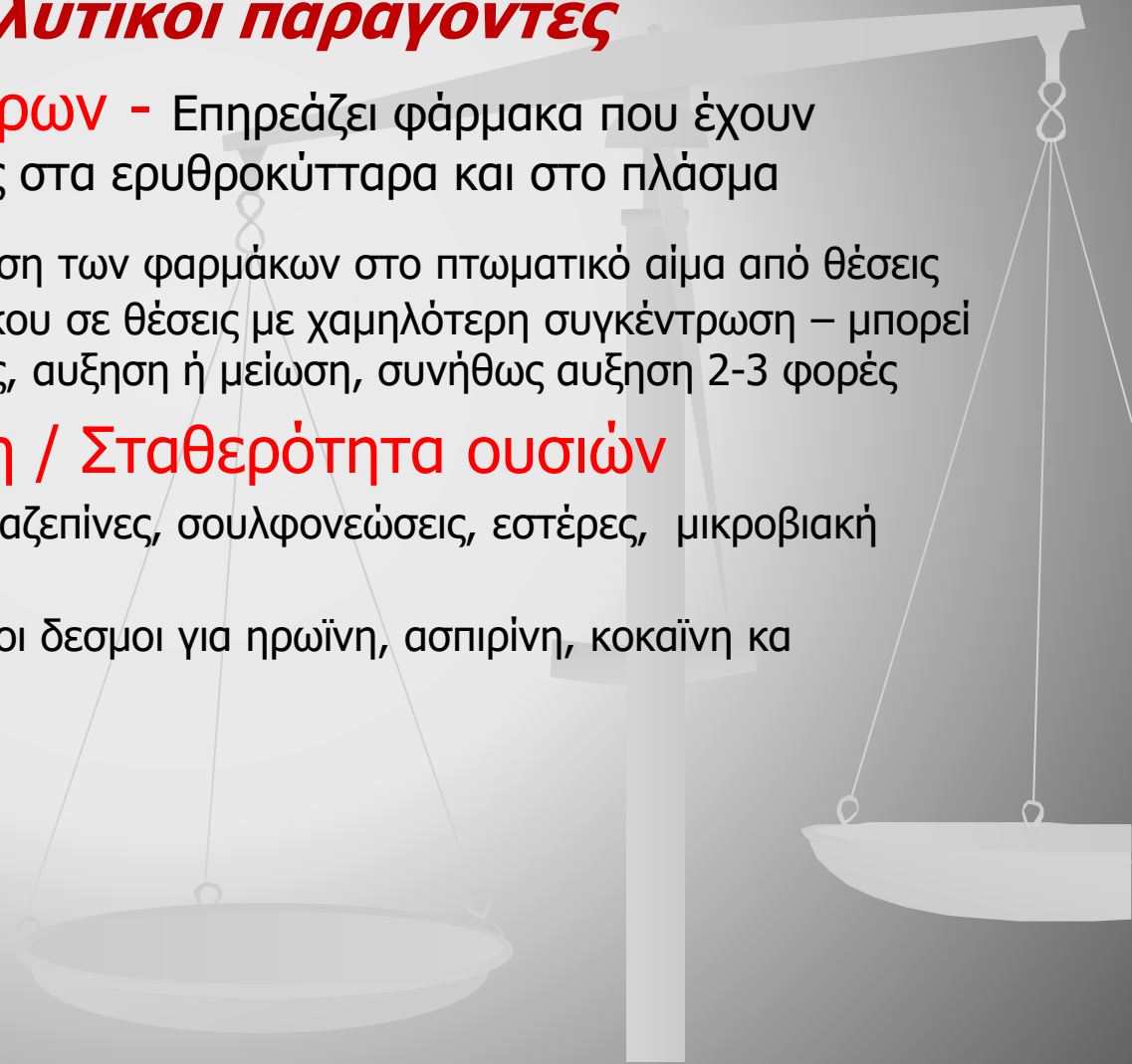


# Νεκροτομικό υλικό $\neq$ κλινικό δείγμα

Γενικά οι συγκεντρώσεις φαρμάκων στο ΝΥ διαφέρουν απ αυτές τη στιγμή του θανάτου

## *Προαναλυτικοί παράγοντες*

- **Αυτόλυση των κυττάρων** - Επηρεάζει φάρμακα που έχουν διαφορετικές συγκεντρώσεις στα ερυθροκύτταρα και στο πλάσμα
- **Ανακατανομή** - Μετακίνηση των φαρμάκων στο πτωματικό αίμα από θέσεις υψηλότερης συγκέντρωσης φαρμακού σε θέσεις με χαμηλότερη συγκέντρωση – μπορεί να επιφέρει απρόβλεπτες μεταβολές, αύξηση ή μείωση, συνήθως αύξηση 2-3 φορές
- **Παραγωγή / Διάσπαση / Σταθερότητα ουσιών**
  - Μικροβιακή δράση: βενζοδιαζεπίνες, σουλφονεώσεις, εστέρες, μικροβιακή παραγωγή αιθανόλης κα
  - Χημική διάσπαση – εστερικοί δεσμοί για ηρωΐνη, ασπιρίνη, κοκαΐνη κα

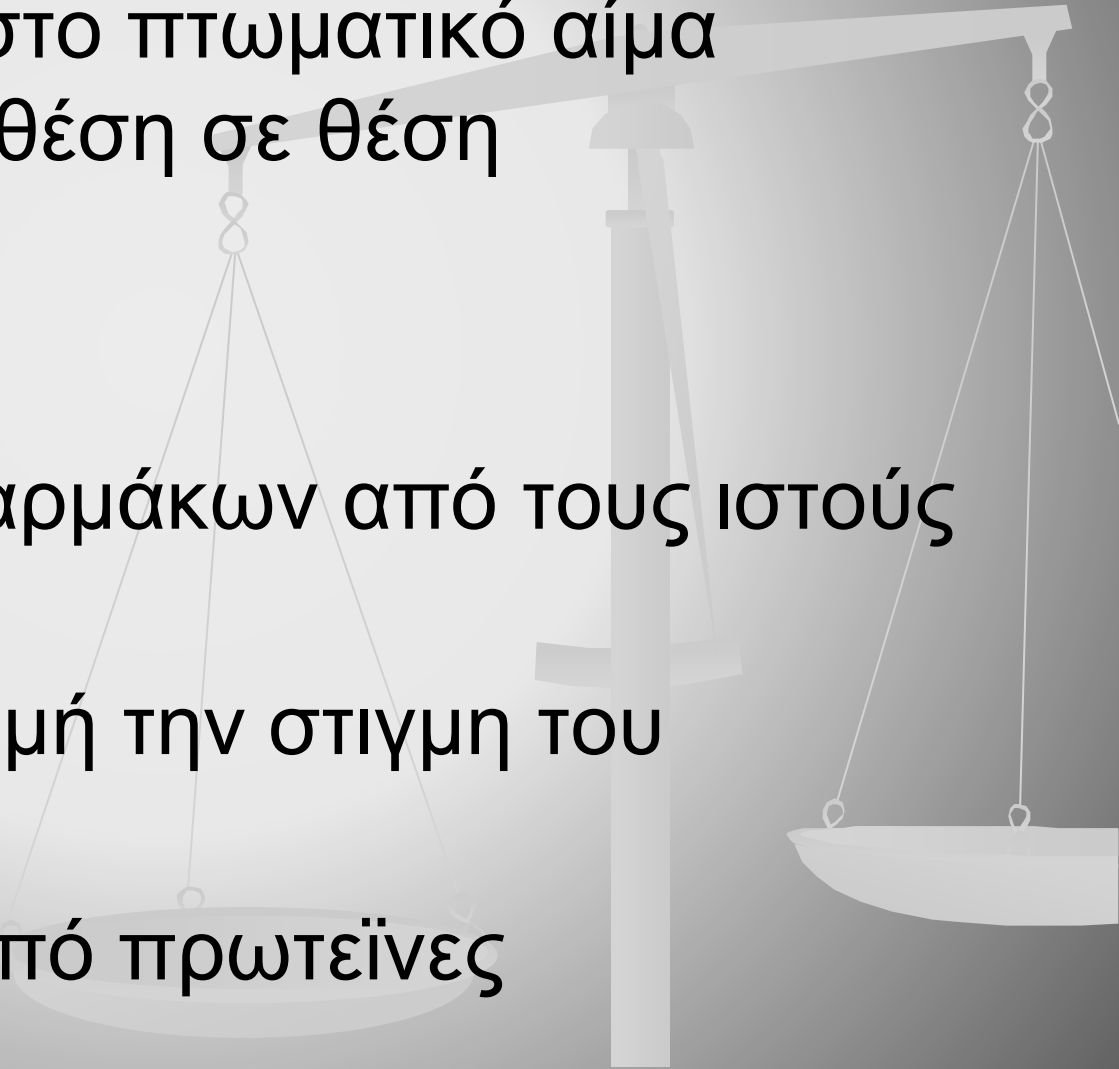


# Μεταθανάτια ανακατανομή

- Συγκεντρώσεις στο πτωματικό αίμα ποικίλλουν από θέση σε θέση

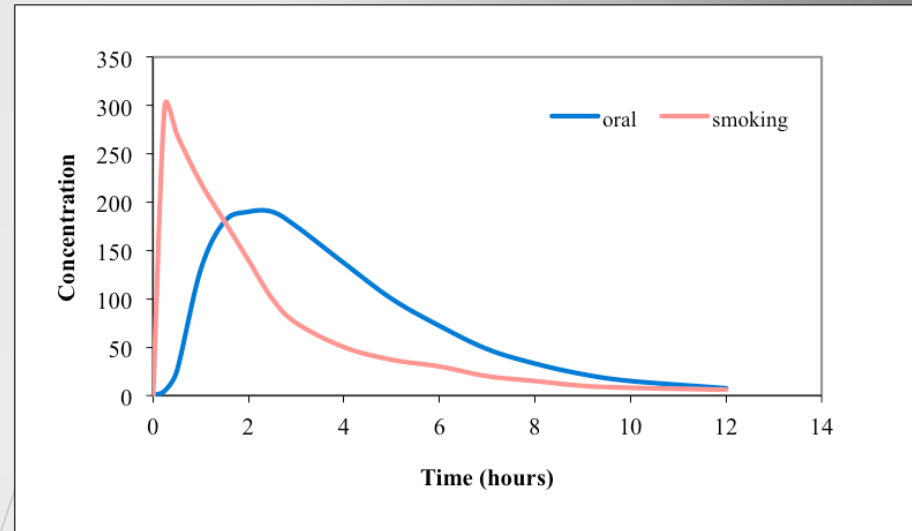
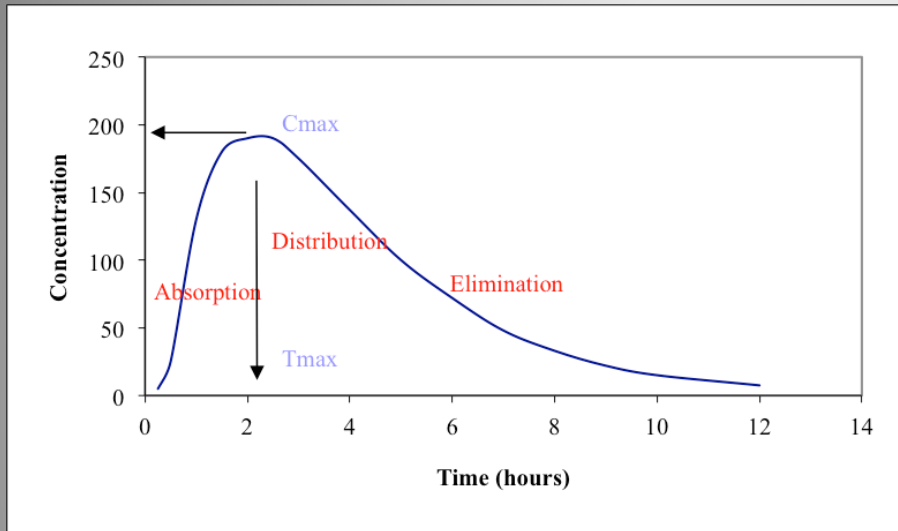
## Αιτίες

- Ανακατανομή φαρμάκων από τους ιστούς στο αίμα
- Ημιτελής κατανομή την στιγμή του θανάτου
- Αποδέσμευση από πρωτεΐνες

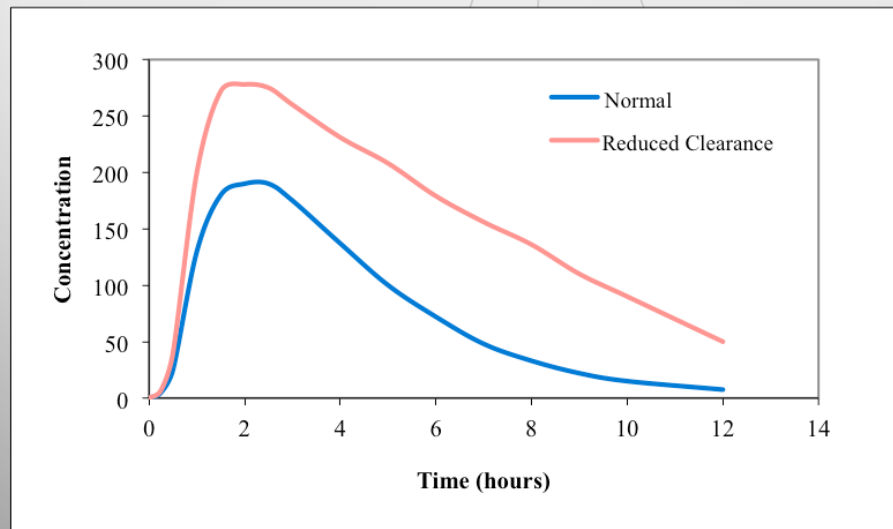




# Μεταβολη συγκεντρώσεων φαρμάκων με τον χρόνο από την λήψη



Terms above are used to define pharmacokinetics of drugs in blood

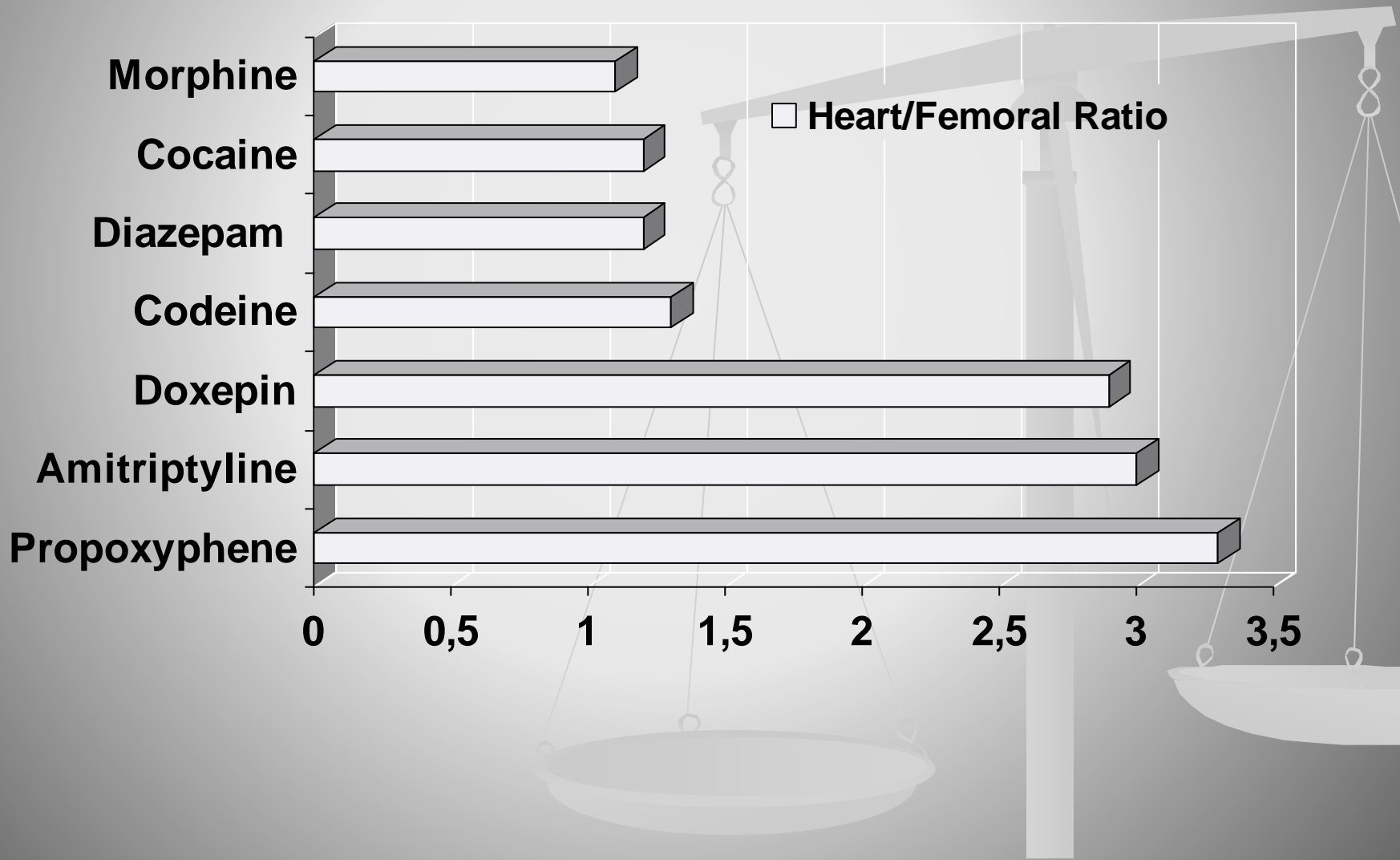


Smoking causes a much more rapid increase in concentrations

Clearance of drug can be reduced by disease leading to higher concentrations

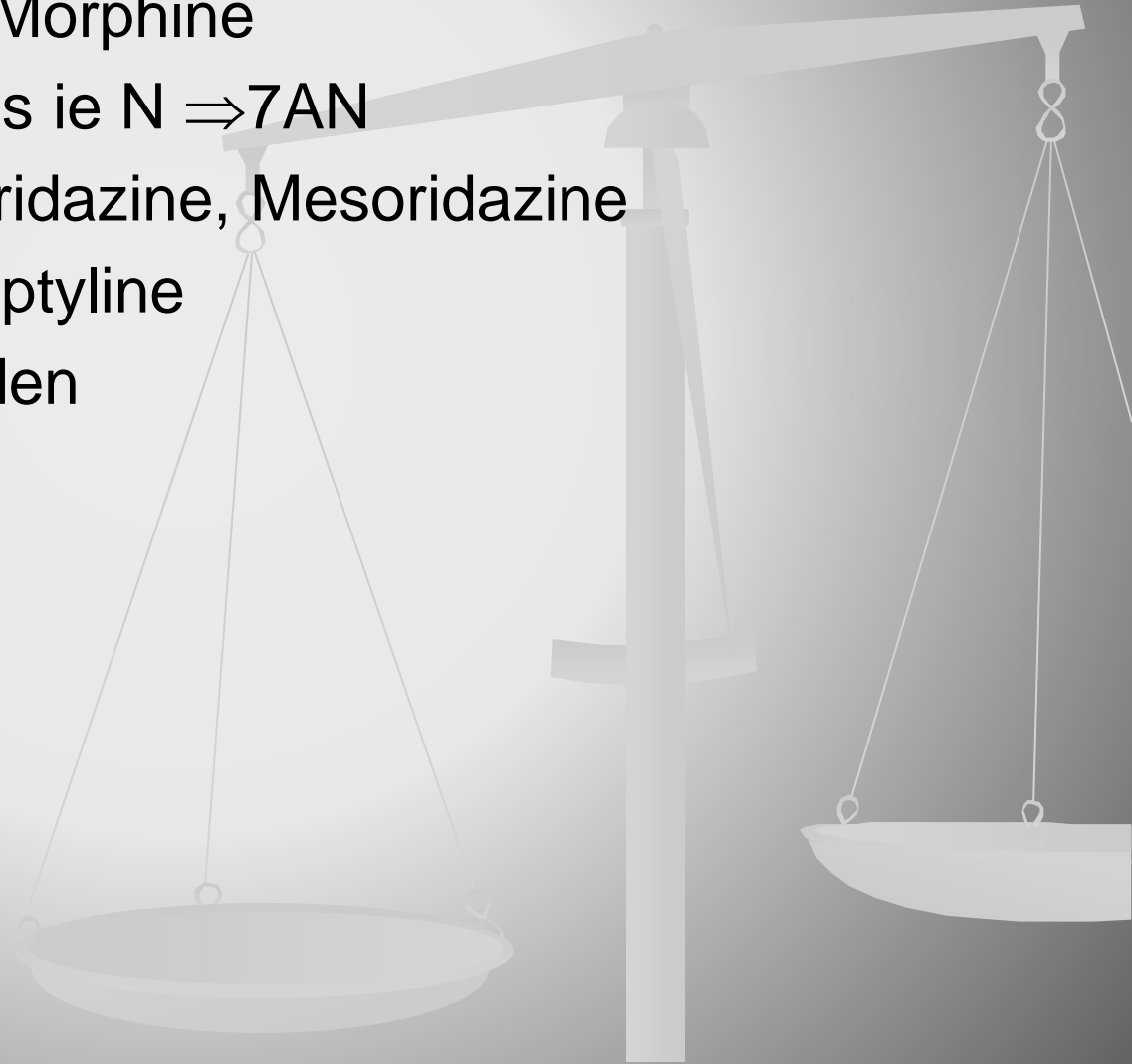
# Μεταθανατια ανακατανομή, συν..

(Prouty & Anderson 1990, Gerostamoulos & Drummer 2001)



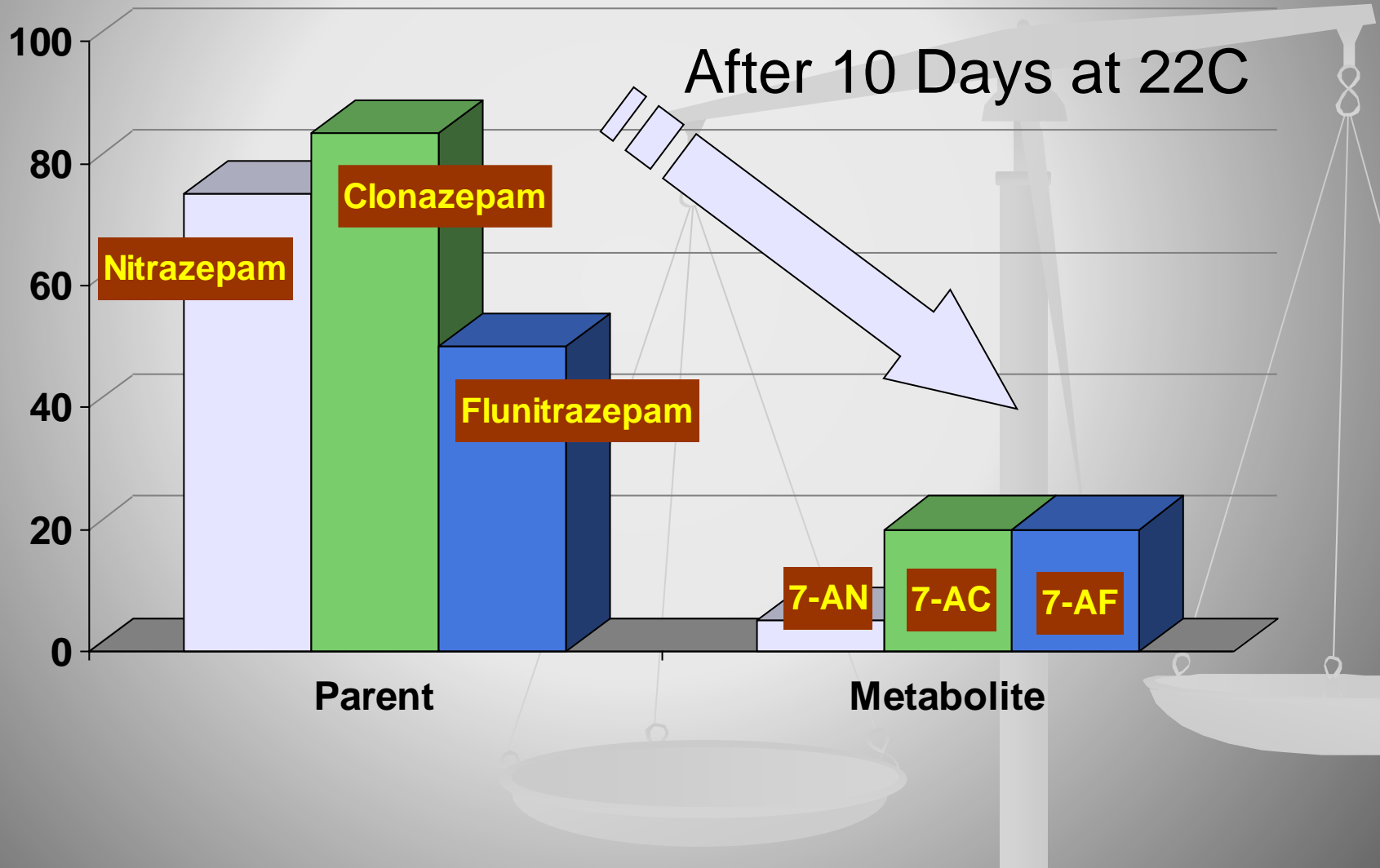
# Μεταθανάτια μετατροπή

- Heroin  $\Rightarrow$  6-MAM  $\Rightarrow$  Morphine
- Nitro-benzodiazepines ie N  $\Rightarrow$  7AN
- Thioridazine  $\Rightarrow$  Sulforidazine, Mesoridazine
- Amitriptyline  $\Rightarrow$  Nortriptyline
- Dothiepin  $\Rightarrow$  Northiaden
- Cocaine  $\Rightarrow$  BZE



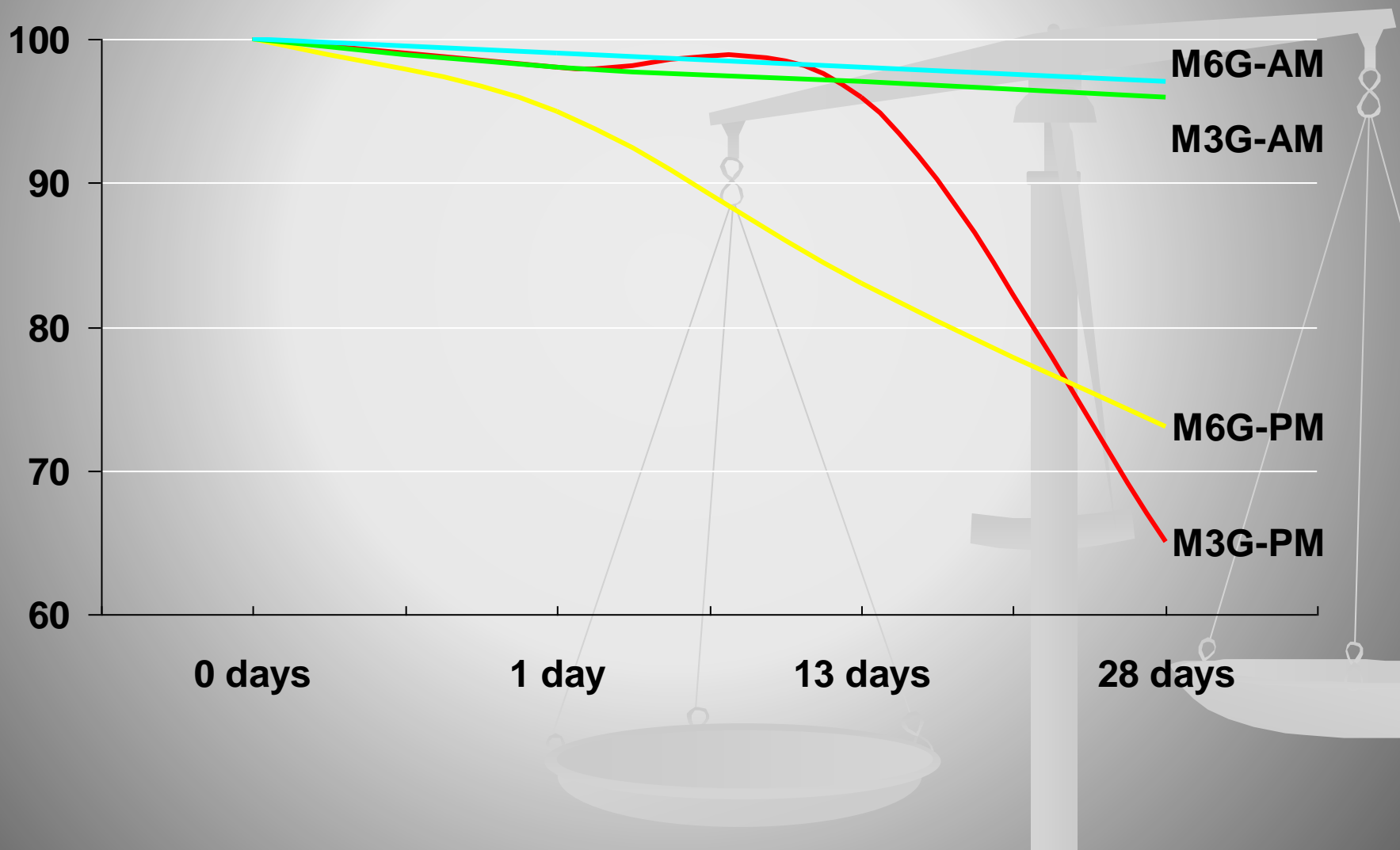
# Σταθερότητα ουσιων – νιτροβενζοδιαζεπίνες

(Robertson & Drummer 1995)

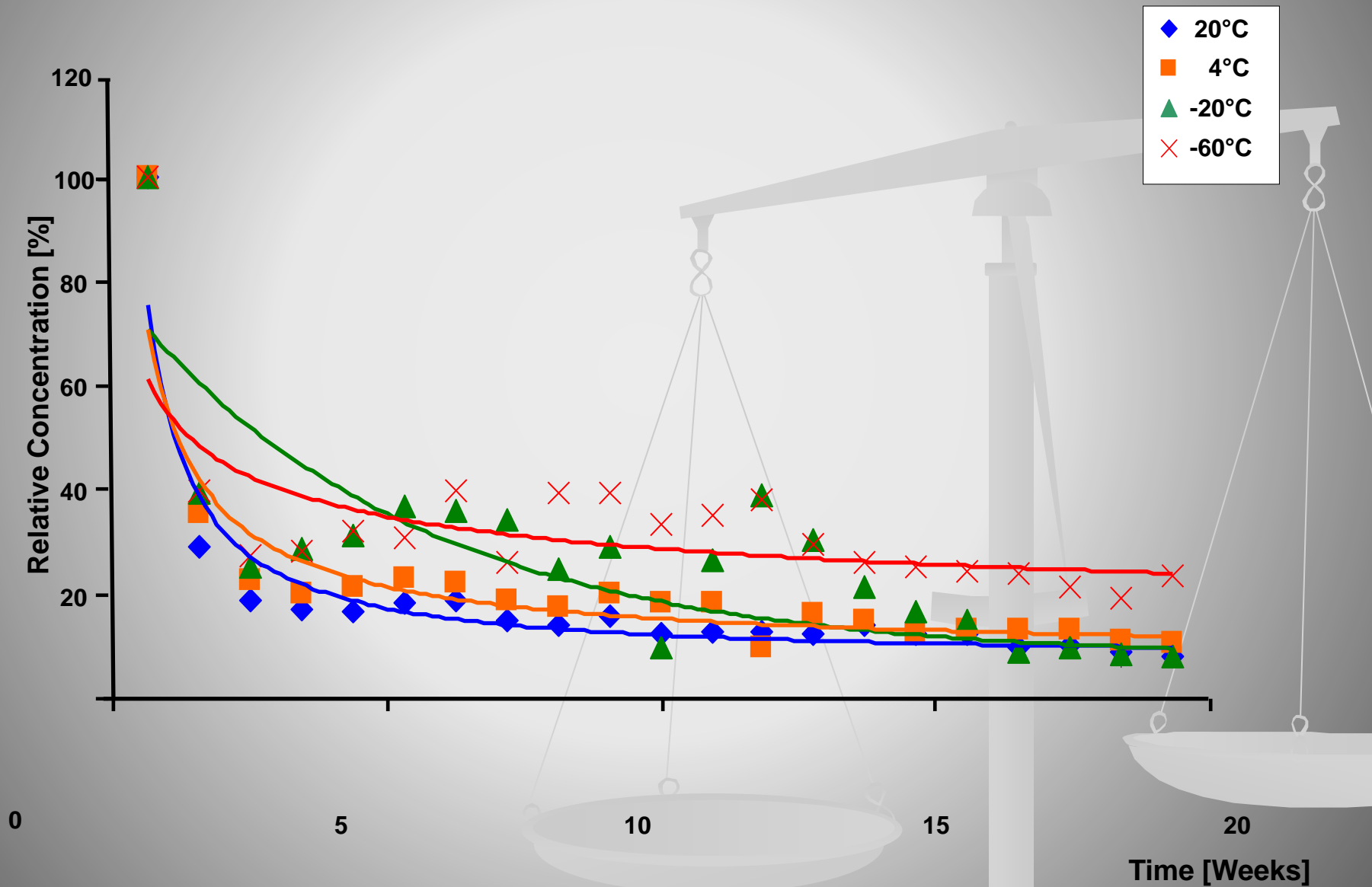


# Σταθερότητα ουσιων— γλυκουρονίδια της μορφίνης (MG) στο αίμα

(Gerostamoulos & Drummer 1997)



# Σταθερότητα ολανζαπίνης (Saar et al 2011)





# Μικροβιακή παραγωγή αιθανόλης

Forensic Science International 232 (2013) 191–198



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Forensic Science International

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/forsciint](http://www.elsevier.com/locate/forsciint)



Modeling microbial ethanol production by *E. coli* under aerobic/ anaerobic conditions: Applicability to real postmortem cases and to postmortem blood derived microbial cultures



Vassiliki A. Boumba<sup>a,\*</sup>, Nikolaos Kourkoumelis<sup>b</sup>, Panagiota Gousia<sup>c</sup>, Vangelis Economou<sup>c</sup>,  
Chrissanthy Papadopoulou<sup>c</sup>, Theodore Vougiouklakis<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Department of Forensic Medicine & Toxicology, Medical School, University of Ioannina, 45110 Ioannina, Greece

<sup>b</sup> Department of Medical Physics, Medical School, University of Ioannina, 45110 Ioannina, Greece

<sup>c</sup> Department of Microbiology, Medical School, University of Ioannina, 45110 Ioannina, Greece

# Προϋποθέσεις για σωστή αξιολόγηση των αποτελεσμάτων

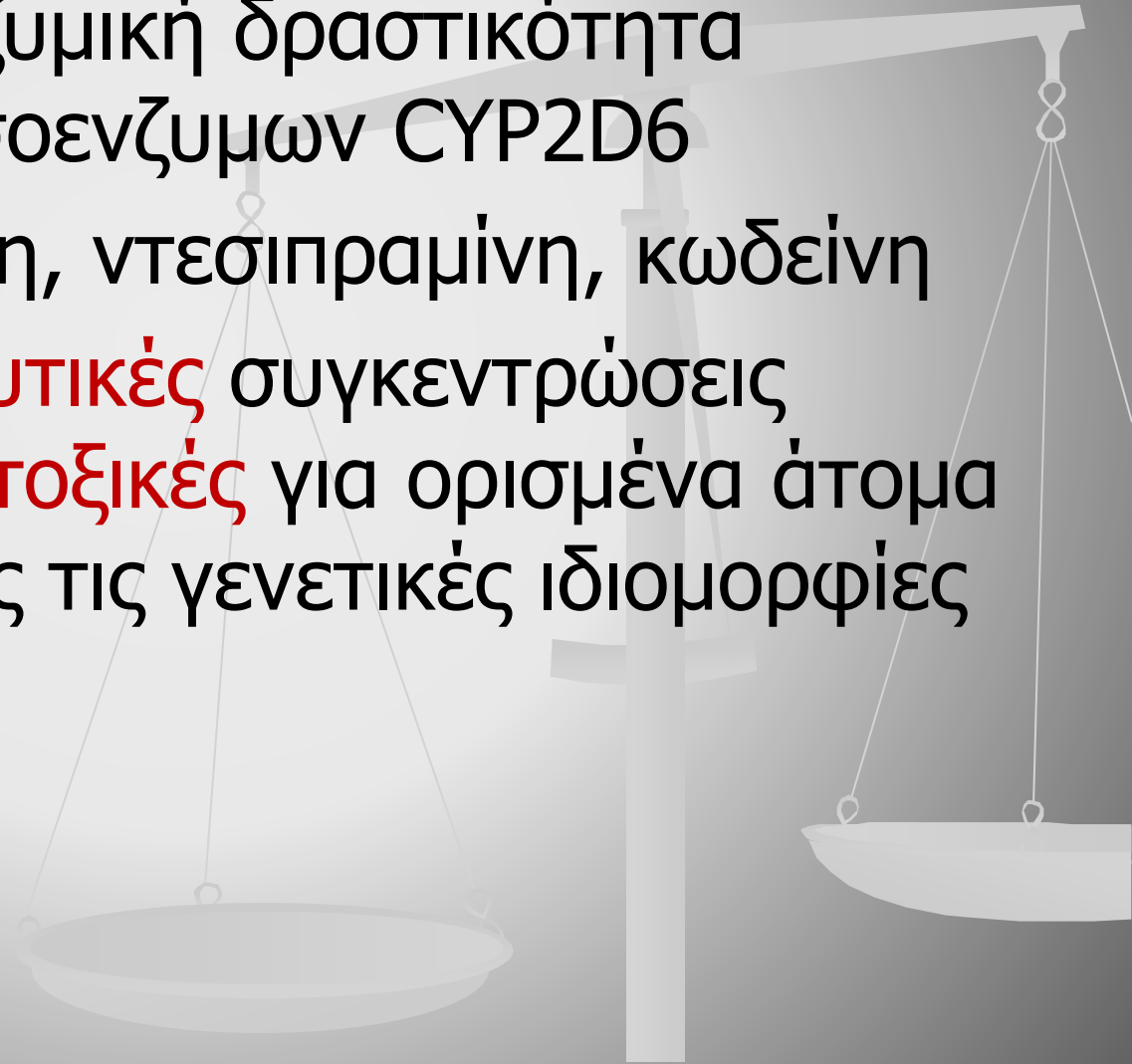
- Αξιόπιστα αναλυτικά αποτελέσματα,
- Φαρμακοκινητική και φαρμακοδυναμική,
- Είδος, Ποιότητα / καταλληλότητα δειγμάτων ακόμη
- Βασικές γνώσεις ανατομίας και ιατροδικαστικής

...ακόμη....



# Επίδραση γενετικών παραγόντων

- Διαφορετική ενζυμική δραστηριότητα διαφορετικών ισοενζυμων CYP2D6
- Πχ αμιτρυπυλλίνη, ντεσιπραμίνη, κωδεΐνη
- Έτσι, οι **θεραπευτικές** συγκεντρώσεις μπορεί να είναι **τοξικές** για ορισμένα άτομα που έχουν αυτές τις γενετικές ιδιομορφίες



# Αξιολόγηση των αποτελεσμάτων τοξικολογικής ανάλυσης – Παράγοντες που λαμβάνονται υπόψη

**Είδος περιστατικού** (δηλητηρίαση, ατύχημα, αιφνίδιος, ύποπτο κλπ)

**Βιολογικό υλικό, θέση δειγματοληψίας** για νεκροτομικό υλικό

**Χρόνος από τη δειγματοληψία μέχρι την ανάλυση**, και για νεκροτομικό υλικό το χρόνο που μεσολάβησε από τον θάνατο ως τη δειγματοληψία

Πιθανή **οδός λήψης** (ΓΕ, ενδοφλέβια, εισπνοή, κλπ)

Ταχύτητα **απορρόφησης και απέκκρισης** (μητρική ουσία και μεταβολίτες)

Ανιχνευθείσες **ουσίες και συγκεντρώσεις** αυτών

Επίδραση **μεταθανάτιων παραγόντων** για αίμα και ιστούς (κατανομή, ανακατανομή, σταθερότητα)

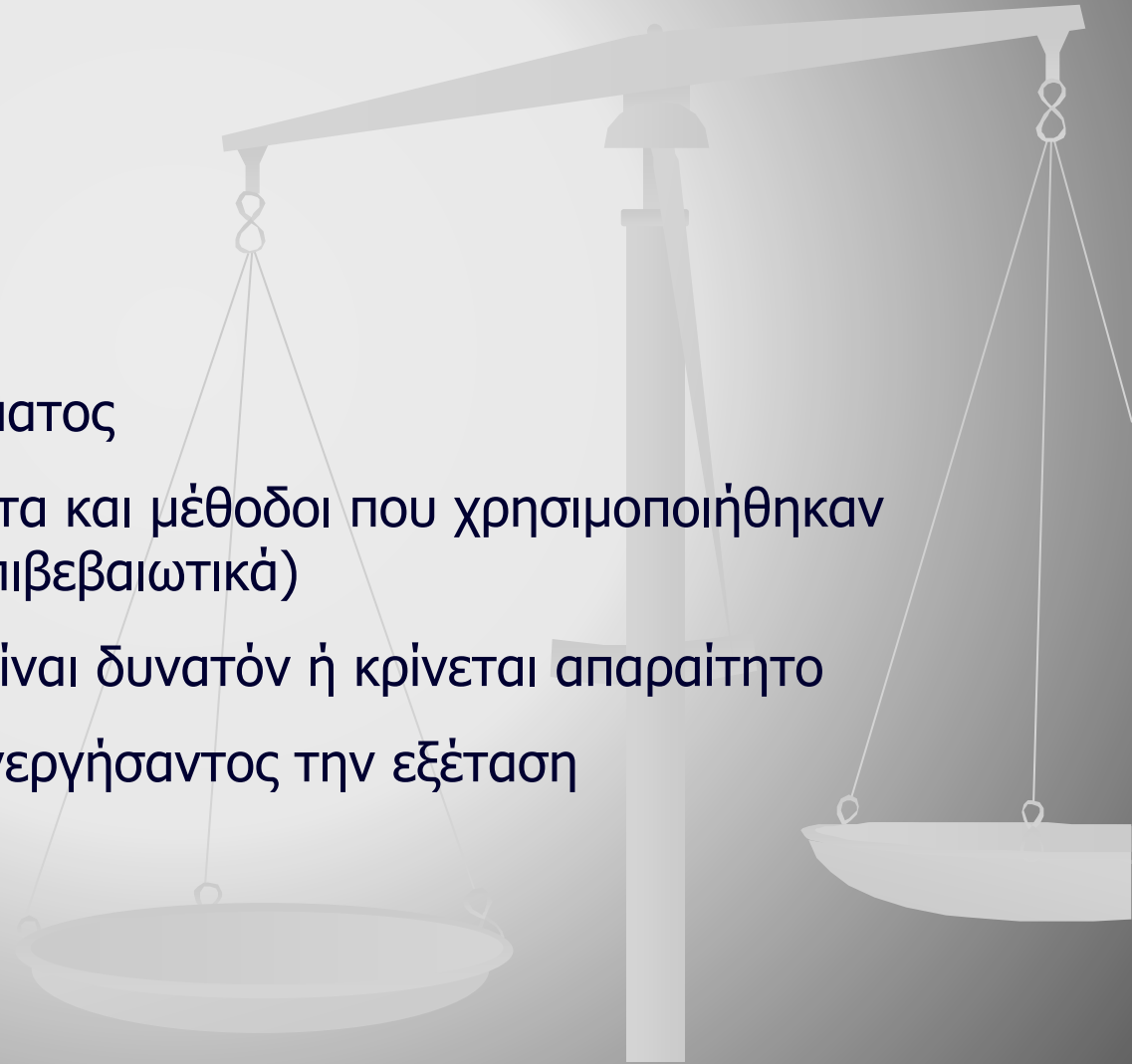
**Φαρμακοκινητικές, φαρμακοδυναμικές και γενετικές** αλληλεπιδράσεις

**Ιστορικό χρήσης ουσιών** (πιθανότητα βιοσυσσώρευσης, ανοχής)

**Ιστορικό** (υποκείμενες νόσοι, φαρμακευτική αγωγή κλπ - όσο λεπτομερέστερο τόσο το καλύτερο)

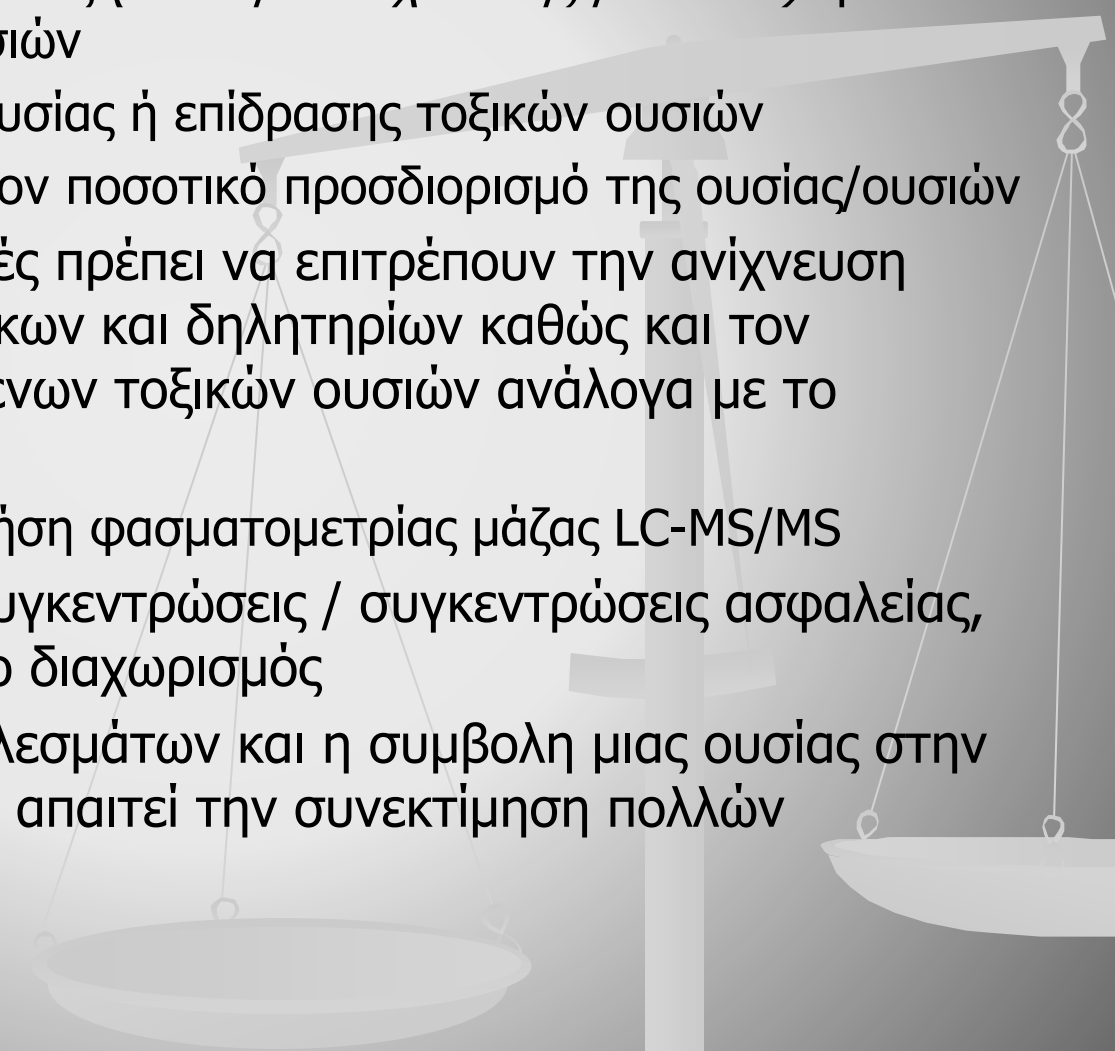
# Έκθεση τοξικολογικής εξέτασης

- Στοιχεία περιστατικού
- Εντολοδότηδα αρχή
- Ημερομηνία λήψης
- Είδος/ περιγραφή δείγματος
- Αναλυτικά αποτελέσματα και μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν (προσανατολιστικά / επιβεβαιωτικά)
- Παρατηρήσεις, όποτε είναι δυνατόν ή κρίνεται απαραίτητο
- Όνομα/ υπογραφή διενεργήσαντος την εξέταση





# Συμπεράσματα

- Η Δικαστική Τοξικολογία για ορισμένο περιστατικό έχει στόχο
    - Τον αποκλεισμό παρουσίας (*κατώφλι ανίχνευσης μεθόδου*) ή επίδρασης τοξικών ουσιών
    - Την επιβεβαίωση παρουσίας ή επίδρασης τοξικών ουσιών
    - Τον ταυτοποίηση και τον ποσοτικό προσδιορισμό της ουσίας/ουσιών
  - Οι εφαρμοζόμενες τεχνικές πρέπει να επιτρέπουν την ανίχνευση ευρέος φάσματος φαρμάκων και δηλητηρίων καθώς και τον προσδιορισμό εξειδικευμένων τοξικών ουσιών ανάλογα με το περιστατικό.
    - Κατά προτίμηση με χρήση φασματομετρίας μάζας LC-MS/MS
  - Θεραπευτικές / τοξικές συγκεντρώσεις / συγκεντρώσεις ασφαλείας, πολλές φορές δύσκολος ο διαχωρισμός
  - Η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων και η συμβολή μιας ουσίας στην έκβαση του περιστατικού απαιτεί την συνεκτίμηση πολλών παραγόντων.
- 

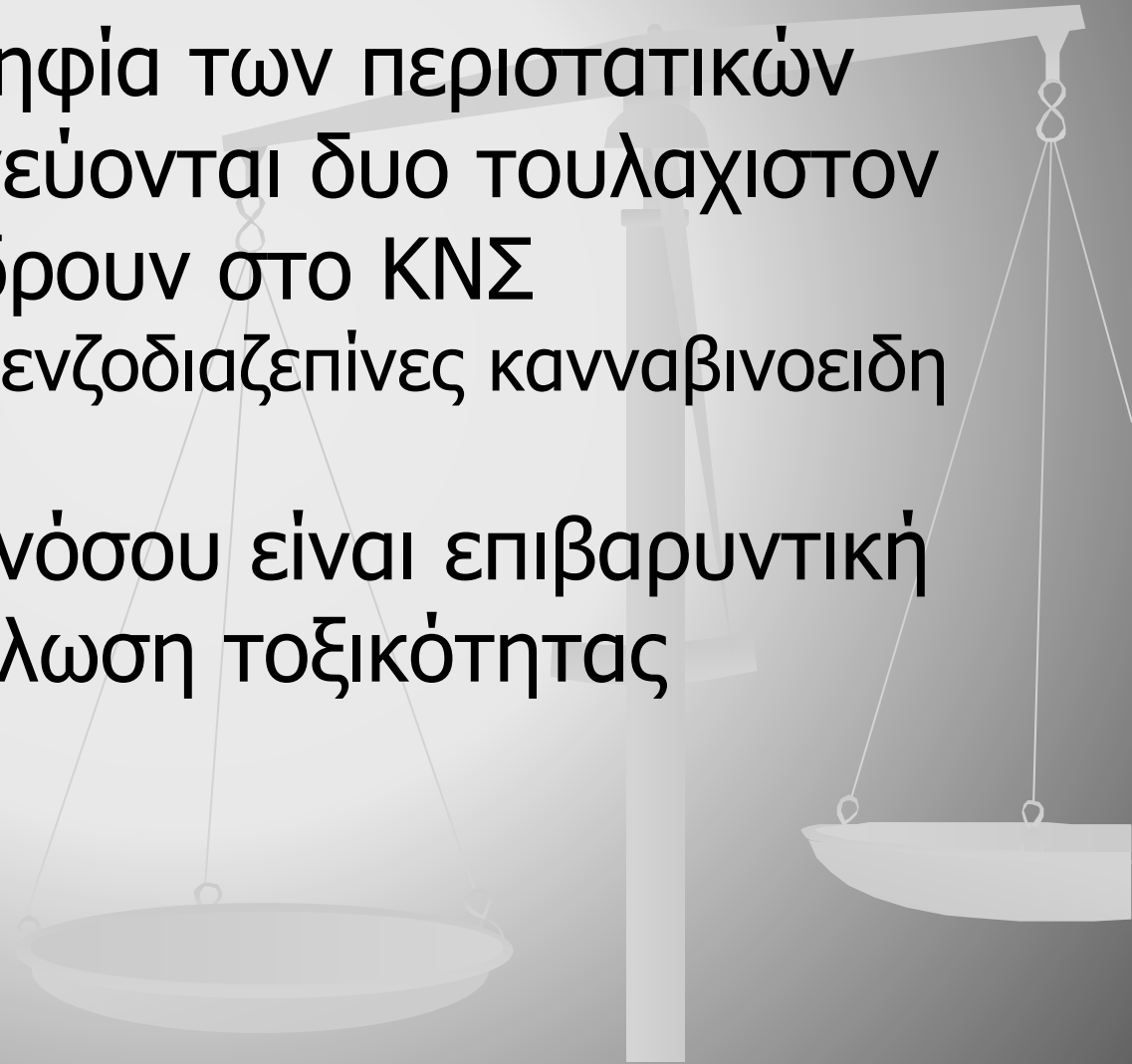
# Βασική Αρχή της Δικαστικής Τοξικολογίας

- το αρνητικό αποτέλεσμα της τοξικολογικής ανάλυσης **δεν αποκλείει** τη λήψη κάποιου φαρμάκου ή δηλητηρίου.
- Το θετικό αποτέλεσμα την επιβεβαιώνει.

*Αρνητικό αποτέλεσμα σημαίνει ότι οι συγκεκριμένες και μόνο ουσίες που έλεγξε το εργαστήριο, είτε δεν υπήρχαν στο συγκεκριμένο δείγμα που ελέγχθηκε (χρόνος δειγματοληψίας, πλήρης απέκκριση), είτε υπήρχαν σε συγκεντρώσεις μικρότερες από το όριο ανίχνευσης (L.O.D) της συγκεκριμένης μεθόδου που εφαρμόστηκε.*

# Επιδημιολογικά στοιχεία! !!!

- Στην πλειοψηφία των περιστατικών (~2/3) ανιχνεύονται δυο τουλάχιστον ουσίες που δρουν στο ΚΝΣ
  - Αιθανόλη, βενζοδιαζεπίνες κανναβινοειδη (30%)
- Η παρουσία νόσου είναι επιβαρυντική για την εκδήλωση τοξικότητας

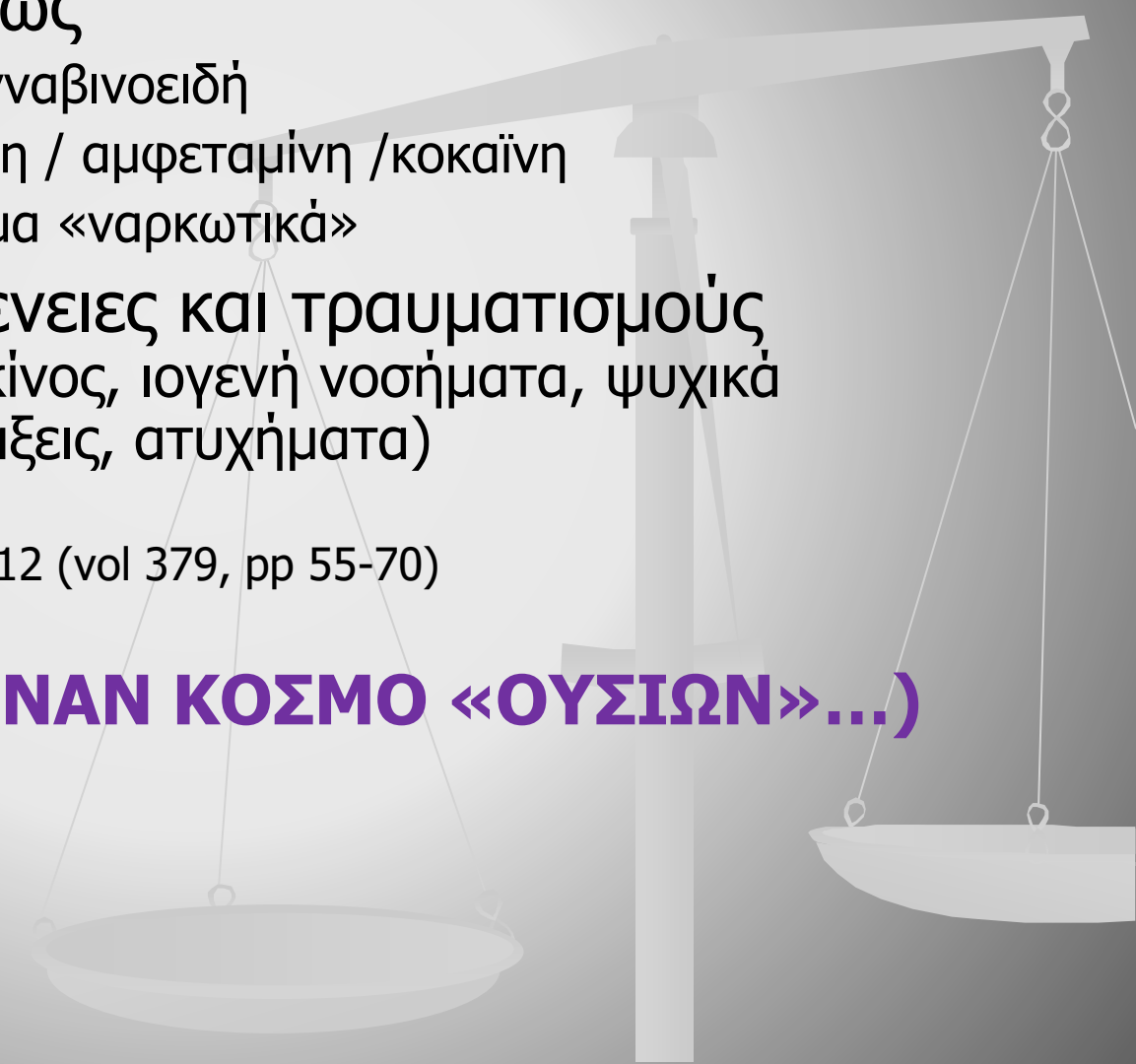


# Παράνομες ουσίες – Ασθένειες- Βία

- 149-271 εκ. άνθρωποι κάνουν χρήση παρανόμων ουσιών παγκοσμίως
  - 159-203 εκ. κανναβινοειδή
  - 15-39 εκ. ηρωίνη / αμφεταμίνη /κοκαΐνη
  - 11-21 εκ. ενέσιμα «ναρκωτικά»
- Συμβολή σε ασθένειες και τραυματισμούς (καρδιαγγειακά, καρκίνος, ιογενή νοσήματα, ψυχικά νοσήματα, βίαιες πράξεις, ατυχήματα)

Degenhardt & Hall, Lancet 2012 (vol 379, pp 55-70)

**(...ΖΟΥΜΕ Σ'ΕΝΑΝ ΚΟΣΜΟ «ΟΥΣΙΩΝ»...)**



**ΕΥΧΑΡΙΣΤΩ!**

