**OZNACZANIE STĘŻENIA SALICYLANÓW W SUROWICY**

Pochodne kwasu salicylowego (salicylany) mają silne działanie przeciwzapalne, przeciwbólowe i przeciwgorączkowe. Już w niewielkich dawkach działają również przeciwkrzepliwie i antyagregacyjnie. Łatwa dostępność tych leków sprawia, że mogą być przyczyną wielu zatruć ostrych (samobójczych lub przypadkowych). Dawkę śmiertelną ocenia się na 0,2-0,5 g/kg m.c., co oznacza 25-35 g dla człowieka dorosłego i powyżej 10 g dla dziecka. Po dawkach toksycznych następuje bezpośrednio pobudzenie o.u.n. (tzw. encefalopatia salicylowa). W ciężkich zatruciach dochodzi do uszkodzenia włośniczek płuc i rozwoju ostrego uszkodzenia płuc (ARDS). Salicylany przenikają także barierę krew-mózg. Ciężkość zatrucia i rokowanie zależą od stężenia salicylanów w surowicy.

Pierwsze objawy toksyczności występują przy stężeniach powyżej 30 mg/dl. Są to: pieczenie w jamie ustnej i przełyku, brak łaknienia, znużenie, bóle i zawroty głowy, szum w uszach, zaburzenie ostrości widzenia i przyspieszenie oddechu.

Przy stężeniach powyżej 70 mg/dl występują niepokój, majaczenie, zaburzenia równowagi, senność. Wyraźnemu przyspieszeniu ulegają oddech i akcja serca. Mogą pojawić się krwawienia z nosa i przewodu pokarmowego.

W zatruciach ciężkich (stężenia powyżej 90 mg/dl), obok znacznego nasilenia opisanych wcześniej objawów, po przejściowym okresie pobudzenia psychoruchowego rozwija się śpiączka z zaburzeniami oddychania (do porażenia czynności oddechowej włącznie) i sinicą. Zatrucia ze stężeniami przekraczającymi 120 mg/dl zwykle kończą się zejściem śmiertelnym.

Salicylany mogą być wykryte bezpośrednio w materiale biologicznym, tj. w moczu, osoczu (bez ekstrakcji) lub po ich ekstrakcji. Kwas acetylosalicylowy przechodzi do wyciągu eterowego ze środowiska kwaśnego, inne salicylany do eteru ze środowiska alkalicznego. Badanie na obecność kwasu acetylosalicylowego w treści żołądka lub popłuczynach żołądka może być wykonane po uprzedniej hydrolizie.

**Wstępne próby do wykrywania salicylanów w materiale biologicznym**

**ODCZYNNIKI:**

- 1% FeCl3

- Etanol

**WYKONANIE**

1. Do 0,5ml próby badanej dodać 5 kropli1% FeCl3 i wymieszać. Pojawienie się fioletowego zabarwienia świadczy wstępnie o obecności kwasu salicylowego.

2. Dodać kilka kropli etanolu. Jeśli zabarwienie nie zniknie (jak to jest w przypadku fenolu), potwierdza to obecność kwasu salicylowego.

**Oznaczanie stężenia salicylanów w surowicy**

**ZASADA METODY**

Kwas salicylowy i jego sole w obecności jonów Fe3+ tworzą barwny (czerwono-fioletowy) kompleks. Dodatek chlorku rtęci powoduje odbiałczenie próbki badanej surowicy i uwolnienie salicylanów z połączeń białkowych. Metoda charakteryzuje się małą czułością, specyficznością, jednak może być stosowana do ilościowego oznaczania salicylanów u osób nimi zatrutych lub do monitorowania stężeń podczas leczniczego stosowania dużych dawek kwasu acetylosalicylowego (np. w leczeniu gorączki reumatycznej).

Oznaczenie polega na reakcji salicylanów z kwaśnym roztworem azotanu żelazowego, w wyniku której powstaje purpurowe zabarwienie, o maksimum absorpcji przy długości fali 536nm.

**ODCZYNNIKI**

1. 0,55% Azotan żelazowy w 0,04M kwasie azotowym.

2. Roztwór wzorcowy salicylanów 1mg/1ml.

**WYKONANIE ĆWICZENIA**

1. **krzywa wzorcowa**

Rozcieńczenia roztworu wzorcowego salicylanów do wykonania krzywej standardowej przygotować w szklanych probówkach według poniższej tabelki:

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Stężenie salicylanów (mg/ml)** | **0**  **(próba ślepa)** | **0,2** | **0,4** | **0,6** | **0,8** | **1,0** |
| Roztwór wzorcowy salicylanów [ml] | 0,0 | 0,1 | 0,2 | 0,3 | 0,4 | 0,5 |
| Woda dejonizowana [ml] | 0,5 | 0,4 | 0,3 | 0,2 | 0,1 | 0,0 |

Dalej postępować jak z próbą badaną. Po odczytaniu wartości absorbancji dla poszczególnych stężeń, wykreśla się krzywą kalibracji na której stężenie salicylanów wyrażone jest w mg/ml.

1. **próba badana**

Do 0,5 ml próby dodać 4,5 ml 0,55% roztworu azotanu żelazowego w 0,04M kwasie azotowym. W obecności salicylanów powstaje purpurowe zabarwienie o natężeniu proporcjonalnym do ich zawartości.

Odczytać absorbancję wobec próby ślepej (0,5 ml wody + 4,5 ml 0,55% azotanu żelazowego) przy długości fali 536 nm za pomocą spektofotometru.

Stężenie salicylanów w surowicy odczytuje się bezpośrednio z krzywej kalibracyjnej w mg/ml. Aby uzyskać wynik w mg/dl otrzymaną wartość w mg/ml należy pomnożyć x 100.

1. **interpretacja wyników**

Stężenia terapeutyczne salicylanów wynoszą:

- 10-20 mg/dl (działanie przeciwbólowe i przeciwgorączkowe)

- 20 – 30 mg/dl (działanie przeciwzapalne)

- 0,02 – 0,13 mg/dl (działanie antyagregacyjne).

Stężenia powyżej 30 mg/dl mogą świadczyć o zatruciu salicylanami.