

**Piotr Polak<sup>1</sup>, Ireneusz Sołtyśzewski<sup>2</sup>, Anna Niemcunowicz-Janica<sup>3</sup>,  
Agnieszka Siwińska-Ziółkowska<sup>4</sup>, Emilia Widecka-Deptuch<sup>4</sup>, Marcin Łukasik<sup>5</sup>, Jerzy Janica<sup>2</sup>**

## Rzadki przypadek zatrucia niemowlęcia wskutek błędnego podania wodzianu 1, 2, 3-trójketohydrindenu (ninhydryny)

### **A rare case of infant poisoning due to accidental administration of 1,2,3-triketohydrinden hydrate (ninhydrin)**

<sup>1</sup> Z Laboratorium Kryminalistycznego Komendy Stołecznej Policji w Warszawie

Kierownik: dr T. Bednarek

<sup>2</sup> Z Zakładu Kryminalistyki i Medycyny Sądowej WPIA UWM w Olsztynie

Kierownik: prof. UWM dr hab. B. Młodziejowski

<sup>3</sup> Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej AM w Białymstoku

Kierownik: prof. dr hab. J. Janica

<sup>4</sup> Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej AM w Warszawie

Kierownik: doc. dr hab. Paweł Krajewski

<sup>5</sup> Z Katedry i Zakładu Toksykologii AM w Warszawie

Kierownik: prof. AM dr hab. M. Szutowski

Niniejsza praca stanowi studium przypadku błędu w sztuce lekarskiej, popełnionego w trakcie przeprowadzenia testu obciążeniowego na fenyloketonurię. Autorzy dokonali analizy akt postępowania przygotowawczego w sprawie zatrucia niemowlęcia na skutek błędnego podania ninhydryny. W toku prowadzonych badań uwzględniono historię choroby poszkodowanego A. L. oraz przeprowadzono badania spektroskopowe (FT-IR), chromatograficzne oraz analizę chemiczną pozwalające potwierdzić obecność substancji toksycznej w zabezpieczonym w toku postępowania przygotowawczego materiale dowodowym. Otrzymane wyniki potwierdziły obecność ninhydryny wewnątrz filiżanki oraz na łyżeczce do herbaty. Nie stwierdzono natomiast jej obecności w pozostałym materiale dowodowym. Zastosowanie rutynowych metod badawczych (GC-MS, FT-IR, UV-VIS) pozwoliło na ujawnienie i identyfikację ninhydryny, zarówno w postaci czystej chemicznie, jak i jej barwnego kompleksu z aminokwasami, a szczegółowa analiza przebiegu zdarzenia oraz różnorodność materiału dowodowego, zabezpieczonego w trakcie postępowania, umożliwiło ustalenie osób odpowiedzialnych za błędne podanie niemowlęciu substancji trującej.

The paper presents a case of medical malpractice during the test for phenylketonuria. The authors analyzed all

documents collected in the course of the investigation of infant poisoning due to accidental administration of ninhydrin. The medical assessment was based on an extensive review of the case history, as well as on spectroscopy (FT-IR), chromatography and chemical analysis findings that allowed for confirming the presence of the toxic substance in the evidence material collected during the initial investigation. The obtained results confirmed the presence of ninhydrin in the tea cup and in the teaspoon, which were used to prepare the diagnostic medium. No ninhydrin was found in other investigated materials. The employment of routine research methods, including GC-MS, FT-IR and UV-VIS, allowed for detection and identification of the pure chemical form of ninhydrin, as well as its color complex with amino acids. The detailed case analysis, as well as the variability of extensive evidence material collected during the investigation allowed for determining the identity of persons responsible for accidental administration of the poisoning substance to the infant.

**Słowa kluczowe:** ninhydryna, fenyloalanina, niemowlę, zatrucie, GC-MS, FT-IR, UV-VIS  
**Key words:** ninhydrin, phenylalanine, infant, poisoning, GC-MS, FT-IR, UV-VIS

## WSTĘP

Literatura przedmiotu rzadko odnotowuje przykłady błędów terapeutycznych w odniesieniu do małych pacjentów [2, 4, 8, 9, 11, 14]. Celem pracy jest przedstawienie przypadku błędu terapeutycznego, jaki został popełniony w trakcie testu obciążeniowego na fenyloketonurię (test Guthriego) i możliwości identyfikacji substancji toksycznych podanych niemowlęciu.

Fenyloketonuria występująca w kilku postaciach, charakteryzuje się niedoborem enzymu hydroksylazy fenyloalaniny lub jego kofaktora tetrahydrobiopteryny, co powoduje nagromadzenie fenyloalaniny w płynach ustrojowych [13]. Klinicznymi objawami choroby są uszkodzenie OUN, zmiany skórne (o charakterze zmian alergicznych lub zapalnych), skłonność do wymiotów (sugerująca zwężenie odźwiernika, ale nie powodująca zahamowania przyrostu masy ciała), wzmożona pobudliwość, spadek napięcia mięśniowego, wzmożenie odruchów ścięgniastych, drgawki (głównie pod postacią napadów zgięciowych), zbyt wolne przyrosty obwodu głowy oraz opóźnienie rozwoju psychoruchowego, „mysi zapach” wynikający z obecności kwasu o-hydroksyfenylooctowego w moczu pacjenta [6].

## OPIS PRZYPADKU

Z akt postępowania przygotowawczego prowadzonego przez Prokuraturę Rejonową o sygnaturze 1 Ds. 635/00 i zawartej w nich dokumentacji medycznej wynika, że w dniu 06.08.2000 roku do Kliniki Pediatrii przyjęto dwumiesięczne niemowlę płci męskiej. W dniu przyjęcia dziecko było w stanie ogólnym dobrym. Z przeprowadzonego wywiadu wynikało, iż niemowlę urodzone zostało cięciem cesarskim z powodu zagrażającej zamartwicy płodu z objawami niedotlenienia. W 10 stopniowej skali Apgar oceniono go na 7-8 punktów. Noworodkowi przeprowadzono rutynowe badania poziomu fenyloalaniny [6, 13]. Test Guthriego w moczu przeprowadzono metodą bibułowej analizy kolorymetrycznej [7]. W kolejnych pomiarach uzyskano następujące wyniki: 11mg% i 7,5mg%, które stanowiły wskazanie do przeprowadzenia testu obciążeniowego na fenyloketonurię na Oddziale Pediatrii. Rutynowo od dziecka w trzeciej dobie życia pobiera się krew, by wykonać test mający na celu określenie poziomu fenyloalaniny we krwi. Górna granica normy tego związku u zdrowego dziecka wynosi do 2mg/100 ml krwi. W przypadkach chorobowych może być nawet 10-krotnie wyższa [6].

W dniu 09.08.2000 roku, po wcześniejszym pobraniu krwi do badań kontrolnych, dziecku założono sondę do żołądka i podano 60 ml substancji płynnej, przezroczystej o lekko kremowej barwie. Do przygotowania roztworu użyto suchego, krystalicznego proszku, który otrzymano z Pracowni Aminokwasów w plastikowym, nie opisanym woreczku foliowym. Wizualnie proszek ten nie różnił się od fenyloalaniny używanej wcześniej do badań. Po podaniu roztworu sondę z żołądka usunięto, a dziecko w stanie ogólnym dobrym oddano matce. Po kilku minutach matka zgłosiła wystąpienie u dziecka zaburzeń czynnościowo-fizjologicznych układu oddechowego oraz pojawienie się dużej ilości pianistej wydzieliny w jamie ustnej. W gabinecie zabiegowym odessano wydzielinę z jamy ustnej, jednocześnie zaobserwowano objawy niewydolności krążeniowo-oddechowej. Dziecko zostało zaintubowane i przekazane do Kliniki Intensywnej Terapii, gdzie wykonano płukanie żołądka [11]. Jednocześnie obserwowano pogłębiającą się niewydolność oddechową i krążeniową, drgawki, uogólnione obrzęki oraz powiększenie wątroby. Wykonane badania dodatkowe wykazały postępujące zaburzenia metaboliczne (kwasica metaboliczna, hiperglikemia, hipoproteinemia) oraz zaburzenia krzepnięcia, zaburzenia funkcji wątroby z obniżeniem czynników układu protrombiny i wzrostem poziomu transaminaz i bilirubiny (GPT-273 U/litr, GOT-525 U/litr, bilirubina 51,1  $\mu$ mol/litr), wzrost poziomu mocznika (6,2 mmol/litr). W przeprowadzonym badaniu radiologicznym płuc obserwowano cechy obrzęku. Badanie popłuczyn żołądka wykazało obecność w nich śladowej ilości ninhydryny. Nie stwierdzono obecności innych związków organicznych objętych badaniem.

W leczeniu zastosowano respiratoroterapię, nawodnienie dożylnie, leki przeciwobrzękowe i moczopędne, wyrównywano zaburzenia metaboliczne oraz zaburzenia krzepnięcia. Farmakologicznie opanowano drgawki, stosowano ciągły wlew katecholamin oraz żywienie parenteralne. Z powodu hipoproteinemii i anemizacji dziecku przetaczano preparaty krwi. Dziecko osłonowo otrzymywało dwa antybiotyki i wlew Zantacu [2, 11]. Ciężki stan dziecka utrzymywał się przez trzy doby. W czwartej dobie leczenia stan dziecka zaczął ulegać szybkiej poprawie, w piątej dobie dziecko ekstubowano i odłączono od respiratora. Normalizacji ulegały parametry hematologiczne, parametry biochemiczne, ustępowały obrzęki. W siódmej dobie stopniowo wdrożono żywienie enteralne. Konsultacja neurologiczna, kardiologiczna oraz gastroenterologiczna nie wykazały odchyłeń od stanu prawidłowego. Dziecko zostało wypisane

do domu w stanie ogólnym dobrym, bez odchylenia od stanu prawidłowego, z zaleceniami kontroli w Poradniach Specjalistycznych.

## MATERIAŁ I METODY

### 1. Materiał badawczy

Do pracowni fizykochemii Laboratorium Kryminalistycznego Komendy Stołecznej Policji nadesłano dowody rzeczowe zabezpieczone w trakcie oględzin gabinetu zabiegowego, w postaci: filiżanki i łyżeczki do herbaty zawierające śladowe ilości białej krystalicznej substancji, ustnika wykonanego z niewybarwionego tworzywa sztucznego, rurki ustno-gardłowej wykonanej z tworzywa sztucznego koloru zielonego oraz fragmentu drewna, na których znajdowały się ślady brunatno-czerwonej substancji.

Do pracowni toksykologii Zakładu Medycyny Sądowej w Warszawie dostarczono kubeczek plastikowy z zamknięciem zatraskowym, który był opisany „treść żołądkowa-popłuczyny”. Kubeczek zawierał około 100 ml płynnej rzadkiej (bez obecności ciał stałych) cieczy o barwie granatowo-fioletowej.

### 2. Materiał chemiczny

Wzorce analizowanej substancji ninhydryny pochodziły z firmy BVDA International z Holandii i polskiej firmy POCH Polskie Odczynniki Chemiczne. Wzorec fenyloalaniny zakupiono w firmie Sigma-Aldrich. Dwie próbki ninhydryny i fenyloalaniny zostały zabezpieczone w Pracowni Aminokwasów Kliniki Pediatrii i przekazane do analizy.

### 3. Metody analityczne

Badanie materiału biologicznego.

Odczyn dostarczonych popłuczyn z żołądka był lekko kwaśny (pH 6).

Próbkę popłuczyn z żołądka w objętości 50 ml ekstrahowano bezpośrednio chloroformem z odczynu kwaśnego (pH 2,5) oraz zasadowego (pH 9). Z osuszonych wyciągów odparowano rozpuszczalniki, a suche pozostałości zawieszono w metanolu. Tak przygotowane próby poddano badaniom przy pomocy chromatografii gazowej ze spektrometrią mas w różnych programach temperaturowych.

Warunki analizy:

Kolumna: HP – 5ms, długości 30 m i średnicy wewnętrznej 0,25 mm z filmem 0,25  $\mu\text{m}$ .

Gaz nośny – hel, przepływ przez kolumnę 1 ml/min.

Program temperaturowy 1: 150-295°C z przyrostem 10°C/min i zatrzymaniem w temperaturze końcowej 6 min.

Program temperaturowy 2: 90-250°C z przyrostem 10°C/min 250-280°C i zatrzymaniem w temperaturze końcowej 3 min.

Temperatura portu nastrzykowego: 250°C.

Temperatura linii transferowej: 280°C.

Detektor – MS.

### Badanie dowodów rzeczowych

Próbki białej krystalicznej substancji znajdującej się wewnątrz filiżanki i na powierzchni łyżeczki, analizowano metodą spektroskopii w podczerwieni (FT-IR) techniką pastylkowania z KBr, w zakresie od 4000 do 400  $\text{cm}^{-1}$ , na aparacie Spectrum BX – 2 model 1000, firmy Perkin Elmer, wykorzystując licencjonowane oprogramowanie Spectrum 2000 i oryginalne biblioteki firmy Perkin Elmer i Sadtler oraz klasycznej analizy chemicznej (Ach). Następnie wewnątrz dowodowej filiżanki, plastikowej rurki (drewna) oraz powierzchnię ustnika i rurki ustno-gardłowej przemyto 70% wodnym roztworem alkoholu etylowego, a uzyskane w ten sposób ekstrakty analizowano metodą chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrem masowym (GC/MS) na aparacie typu QP 5000 Mass Spectrometr firmy Shimadzu [1].

Warunki analizy:

Kolumna: HP – 5, długości 25 m i średnicy wewnętrznej 0,32 mm z filmem 0,52  $\mu\text{m}$ .

Gaz nośny – hel.

Program temperaturowy 100-240°C z przyrostem 17°C/min i zatrzymaniem w temperaturze początkowej 0,5 min i temperaturze końcowej 5,5 min, 240-280°C z przyrostem 20°C/min i zatrzymaniem w temperaturze końcowej 5 min.

Detektor – MS.

W związku z uzyskaniem zmiany zabarwienia roztworów uzyskanych po wymyciu substancji znajdującej się we wnętrzu drewna, powierzchni rurki ustno-gardłowej oraz ustnika – wynikającego z reakcji ninhydryny z aminokwasami przeprowadzono analizę spektralną w zakresie UV/VIS na spektrofotometrze UV – 2101 PC UV/VIS Scanning Spectrophotometer Model TCC – 260 firmy Shimadzu [10, 12].

W celu porównania właściwości fizykochemicznych ninhydryny i fenyloalaniny przeprowadzono eksperyment polegający na rozpuszczeniu 615mg ww. substancji w 60 ml wody [3]. Zaobserwowano różnice w barwach uzyskanych roztworów (roztwór ninhydryny był jasno-żółty, a fenyloalaniny bezbarwny). Stwierdzono również różnice w zachowaniu się badanych substancji podczas procesu sedymentacji. Z uwagi na napięcie powierzchniowe cieczy fenyloalanina częściowo osadziła się na powierzchni, natomiast w roztworze ninhydryny

zaobserwowano opadanie kryształów substancji chemicznej na dno naczynia.

## WYNIKI

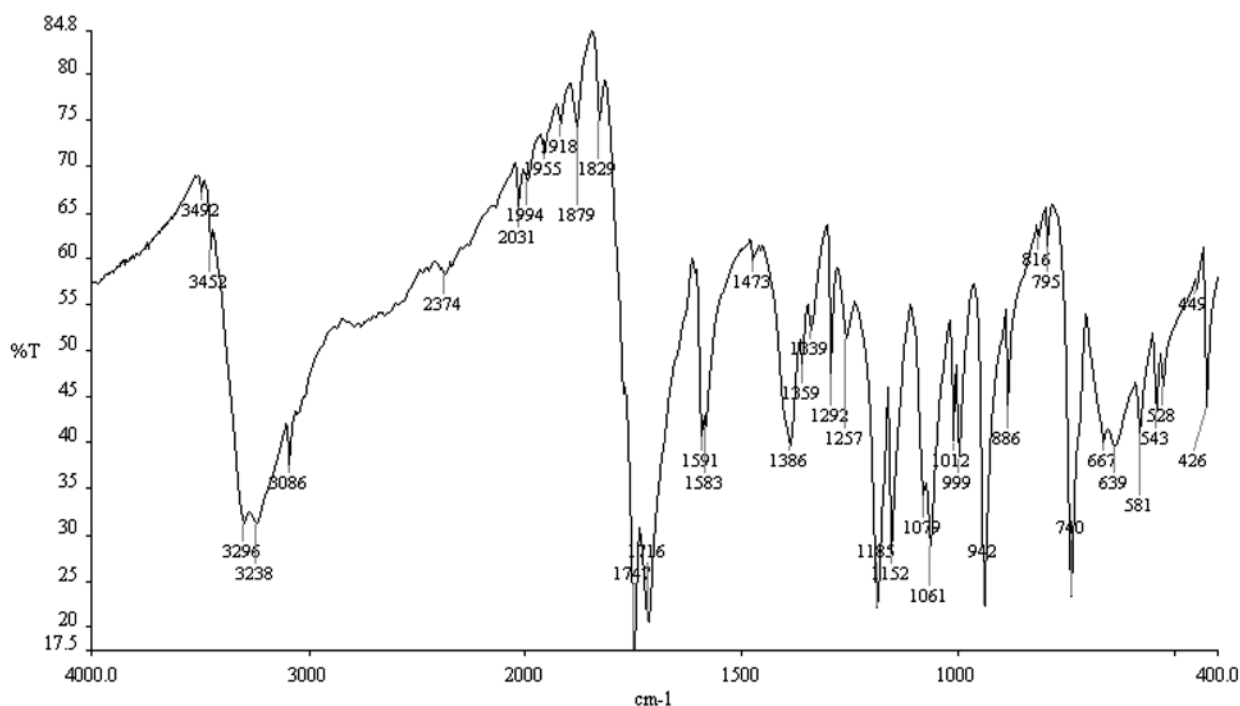
W wyniku przeprowadzonych badań materiału biologicznego w popłuczynach żołądka stwierdzono obecność śladowej ilości ninhydryny. Wnioskując z intensywnego zabarwienia dostarczonych do

badania popłuczyn żołądka można przypuszczać, że przeważająca część podanej dziecku ninhydryny uległa związaniu z białkami obecnymi w przewodzie pokarmowym.

W wyniku przeprowadzonych badań (FT-IR i GC-MS) zidentyfikowano, że biała krystaliczna substancja znajdująca się wewnątrz filiżanki oraz na łyżeczce do herbaty to ninhydryna. Widmo ninhydryny ujawnionej na łyżeczce do herbaty przedstawia ryc. 1.

Ryc. 1. Widmo FT-IR ninhydryny ujawnionej na łyżeczce do herbaty.

Fig. 1. FT-IR spectrum of ninhydrin on evidential teaspoon.



oś rzędnych – transmitancja T%  
oś odciętych – częstotliwości grupowe  $\text{cm}^{-1}$

W pozostałym materiale dowodowym: drenie, rurce ustno-gardłowej i ustniku powyższe badania (FT-IR i GC-MS) nie wykazały obecności ninhydryny ani fenyloalaniny. Przeprowadzona następnie analiza UV-VIS pozwoliła na stwierdzenie obecności barwnego kompleksu (ninhydryny z aminokwasami) wykazującego maksimum absorpcji przy długości fali 570 nm (4). Widmo UV-VIS barwnego kompleksu ujawnionego na rurce ustno-gardłowej przedstawia ryc. 2.

Analiza uzyskanych wyników nie budziła wątpliwości interpretacyjnych z uwagi na występowanie charakterystycznych częstotliwości grupowych w widmach FT-IR oraz charakterystycznej dla ninhydry-

ny fragmentaryzacji jonów w widmach GC-MS. Ponadto specyficzne powinowactwo ninhydryny do aminokwasów potwierdzone zostało widmem UV-VIS.

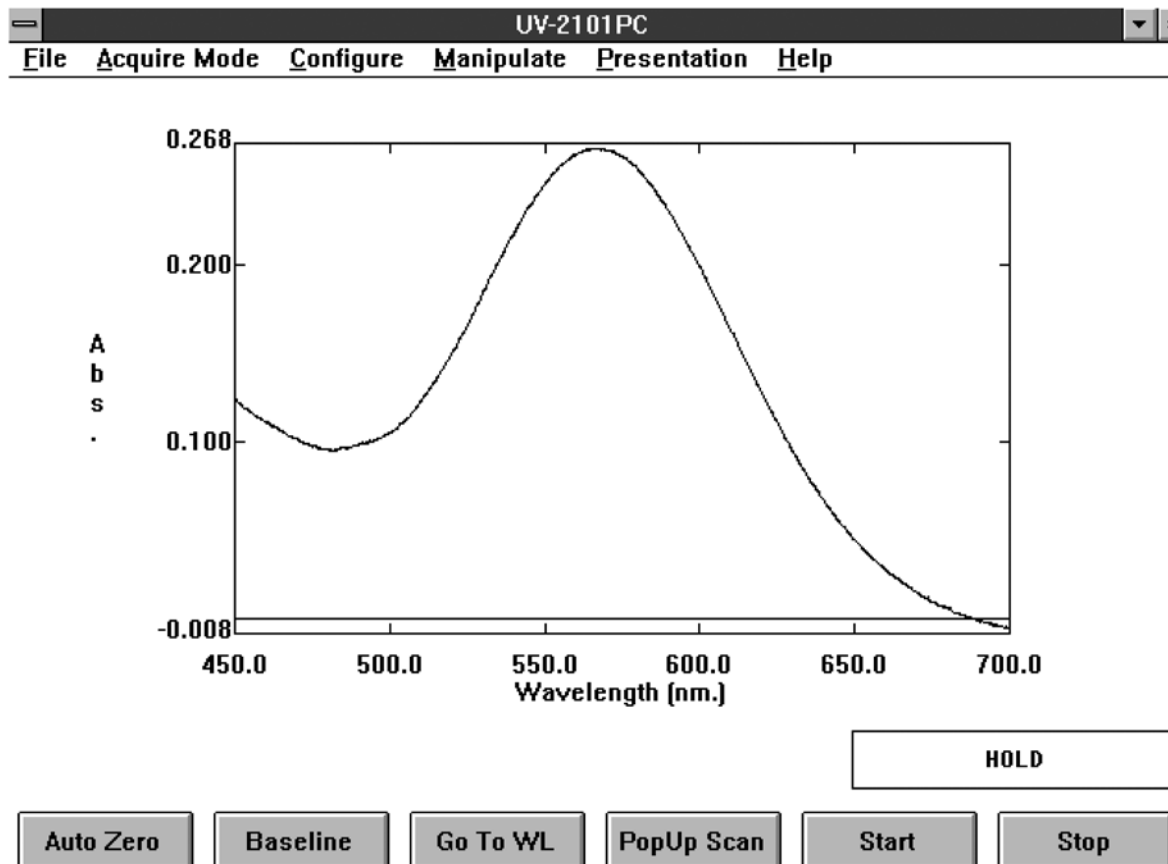
## WNIOSKI

Przypadek błędu terapeutycznego polegającego na omyłkowym podaniu ninhydryny i związanego z tym zatrucia nie był do tej pory odnotowany w literaturze przedmiotu [11].

Zastosowanie rutynowych metod badawczych (GC-MS, FT-IR) pozwoliło na ujawnienie ninhydryny

Ryc. 2. Widmo UV roztworu uzyskanego z ekstrakcji substancji znajdującej się na powierzchni rurki ustno-gardłowej.

Fig. 2. UV spectrum of extracted substance found on the surface of oral-laryngeal tube.



oś rzędnych – absorbancja Abs  
oś odciętych – częstotliwość nm

w części materiałów poddanych analizie (popłuczyny żołądka, wewnętrzna powierzchnia filiżanki i tyżeczka). W przypadku materiałów, w których nie stwierdzono obecności ninhydryny przy użyciu GC-MS i FT-IR zastosowano dodatkową identyfikację specyficznego powinowactwa ninhydryny do aminokwasów widmem UV-VIS. Przy zastosowaniu tej techniki badawczej ujawniono obecność barwnego kompleksu ninhydryny z aminokwasami na powierzchni ustnika, rurki ustno-gardłowej oraz drenu.

Różnorodność zabezpieczonego materiału wodowego: popłuczyny żołądka, filiżanka, tyżeczka, dren, rurka ustno-gardłowa stanowiła podstawę do szczegółowego odtworzenia przebiegu zdarzenia. Fakt ten oraz zastosowanie różnorodnych metod badawczych pozwoliły na jednoznaczne ustalenie przyczyny zatrucia oraz osób odpowiedzialnych za

popętnienie błędu terapeutycznego skutkującego zagrożeniem życia niemowlęcia.

## PIŚMIENNICTWO

1. Basak B., Bandyopadhyay D., Patra M., Banerji A., Chatterjee A., Banerji J.: Role of Sulfur Compounds in the Detection of Amino Acids by Ninhydrin on TLC Plate. *J. Chromatogr. Sci.* 2005, 43, 2, 104-105.
2. Behrman R. E.: Podręcznik Pediatrii. Nelson. Wydawnictwo Naukowe PWN. Warszawa 1996.
3. Carey A. F.: Organic Chemistry, Chemistry of Virginia, 2003.
4. Deboa D., Borowiak K. S., Ciechanowski K., Kurzejamska-Parafiniuk M.: Zatrucie tiorydazyną,

czy skutek błędów terapeutycznych przyczyną zgonu trzyletniej dziewczynki? Arch. Med. Sąd. Krym., 2002, 52, 2, 111-120

5. Dutt M. C., Teo Teng Poh: Identification of basic drugs by the thin-layer chromatographic profiles of their ninhydrin complexes. J Chromatogr., 1981, 20, 206, 267-77.

6. Fenylketonuria – badania przesiewowe oraz leczenie. Aktualne (2000) stanowisko ekspertów National Institutes of Health. NIH Consensus Statement Online, 2000, 17, 1-27.

7. Guthrie R., Susi A.: A simple phenylalanine metod for detecting phenylketonuria in large populations of newborn infants. Pediatrics. 1963, 32, 338-343.

8. Kabiesz-Neniczka S.: Opiniowanie sądowo-lekarskie w sprawach błędu lekarskiego w materiale Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej Śląskiej AM w Katowicach. Arch. Med. Sąd. Krym, 2000, 50, 1, 49-56.

9. Kłys M., Baran E.: Zatrucia śmiertelne w materiale Zakładu Medycyny Sądowej w Krakowie w latach 1946-1995, Arch. Med. Sąd. Krym, 1996, 4, 277-288.

10. Kirk L. K., Lewis B. A., Ross D. A., Morrison M. A.: Identification of ninhydrin-positive caprolactam metabolites in the rat. Food Chem Toxicol, 1987, 25, 3, 233-239.

11. Leonard M. S., Cimino M., Shaha S., McDougal S., Pilliod J., Brodsky L.: Risk reduction for adverse drug events through sequential implementation of patient safety initiatives in a children's hospital. Pediatrics. 2006, 118, 4, 1124-1129.

12. Niessen W. M. A., Tjaden U. R.: Strategies in developing interfaces for coupling liquid chromatography and mass spectrometry. J. Chromatogr. 1991, 554, 3-26.

13. U.S. preventive services task force. Guide to clinical preventive services, 2nd Edition Washington, D.C., U.S. Department of Health and Human Services, 1996.

14. Wachowiak R., Tobolski J., Klimaszuk D.: Diagnostyka chemiczna zatruc karbamazepiną i jej przydatność w opiniodawstwie toksykologiczno-sądowym. Arch. Med. Sąd. Krym. 2004, 54, 4, 223-233.

Adres do korespondencji:

Dr Anna Niemcunowicz-Janica

Zakład Medycyny Sądowej Akademii Medycznej w Białymstoku

ul. Waszyngtona 13

15-268 Białystok