

KONFİRMASYON TESTLERİNDE
DÜNYA ÜZERİNDE UYGULANAN
TEKNİKLER

Serap Annette Akgür

Ege Üniversitesi

Madde Bağımlılığı, Toksikoloji ve İlaç Bilimleri Enstitüsü-
BATI

Toksikoloji analitik yönden deęerlendirildięinde  ana alan ile iliřkilendirilir.

- Adli düzlem
- Temel analitik İřlemler
- Validasyon (Geçerlilik) ve yorumlama

Analitik Toksikoloji

- Saptama (Detection)
- Tanımlama
(Identification)
- Kantitasyon
(Quantation)
- Doğrulama
(Confirmation)



Alkol ve madde testi

- Klasik adli toksikoloji
- İdrar madde testi
- İnsan performans testi
- Mesleki toksikoloji
- İşyeri madde testi



- **Alkol**
- **Kokain**
- **Kannabinoidler**
- **Opiyatlar/opioidler**
- **Barbitüratlar**
- **Benzodiazepinler**
- **Amfetaminler**
- **Antidepresanlar**
- **GHB (gamma hidroksibutirat)**
- **Fentanil**
- **Buprenorfin**

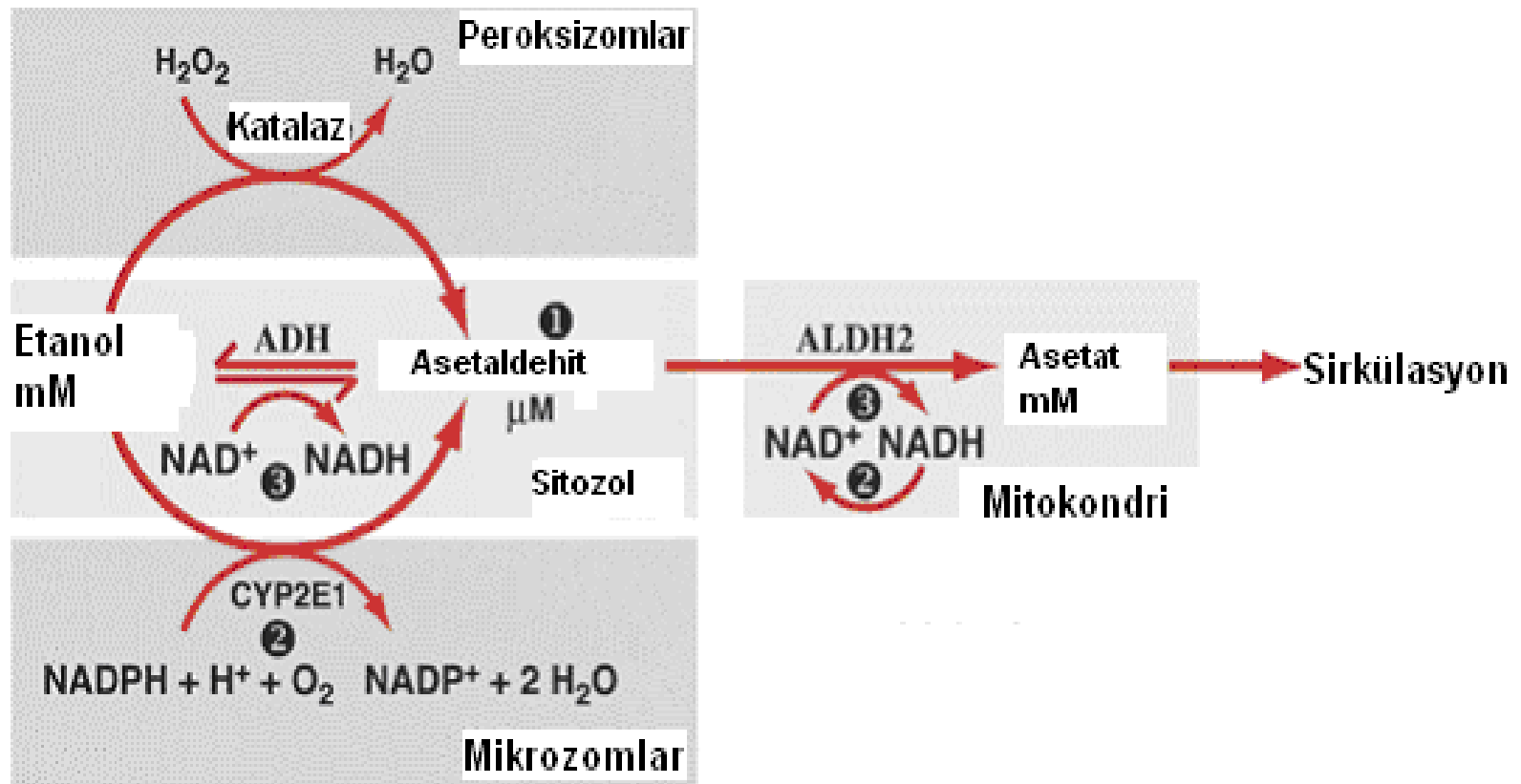


•Referans yöntemler, cut-off değerleri, teknik yeterlilik ve geçerlilik testlerinin belirlendiği rehberler doğrultusunda çalışılmalıdır.

Fentanil

- ◆ POT (Esrar) kullanımından rurin tarama testlerinde saptanmayan fentanil'e geçtim.
- ◆ YANLIŞ NEGATİF SONUÇ

Alkol



- Nefeste, idrarda ve terde değişmeden atılım (<%5)
- Etil glukuronid (EtG, < %0.1)
- Etil Sülfat (< %0.1)
- Asetik asid ve Asetaldehid (>%95)

Faz II reaksiyonları

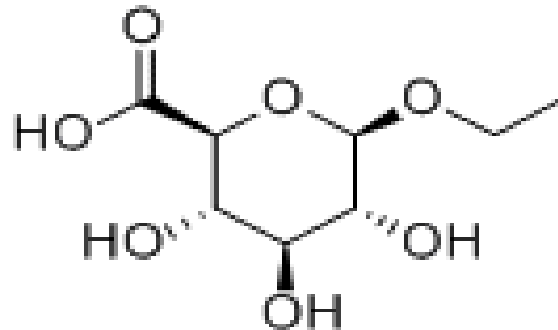
- Glukuronid ile yarışmalı etkileşim genellikle yüksek derişimlerde olur. Böyle olgular genelde letal intoksikasyonlarda görülür. Alkol ve benzodiazepinler, ve aynı zamanda opiyatlar ve benzodiazepinler gibi

Farklı substratlar için bazı UDP-glukuronil- transferazların özgünlüğü

- **Aile**
- UGT1 UGT2
- **Alt aile**
- UGT1A UGT2A,
UGT2B
- UGT- özgünlüğü
- 1A1 Bilirubin 2B3 Alifatik
alkoller
- 1A4 Amitriptilin
- 1A6 Parasetamol 2B7 Morfin,
Kodein
- 1A9 Propofol

EtG

- EtGU-Etilglukuronid idrar-0.1 mg/L(GC/MS)
- EtGH- Etilglukuronid saç-7pg/mg
(Almanya sürücü belgesi rehberi)



EtGU

- Yanlış pozitiflik oluşturan maddeler: meyve suları, meyve sirkeleri, kefir, lahana, meyveli çikolatalar..ki 0.3 mg a kadar EtG oluşturdukları gösterilmiş.
 - (0.25 gr etanol/kg -80 kg);
500 ml %5'lik
233 ml % 12'lik
66ml %40'lik
- Düşük doz alkol kullanımı 0.1 mg/L eşik değerinde dahi gösterilememektedir.
- EtGU analizi için idrar örneği alımı alkol alımını takiben 24 saat içinde olmalıdır.

URINE TESTING

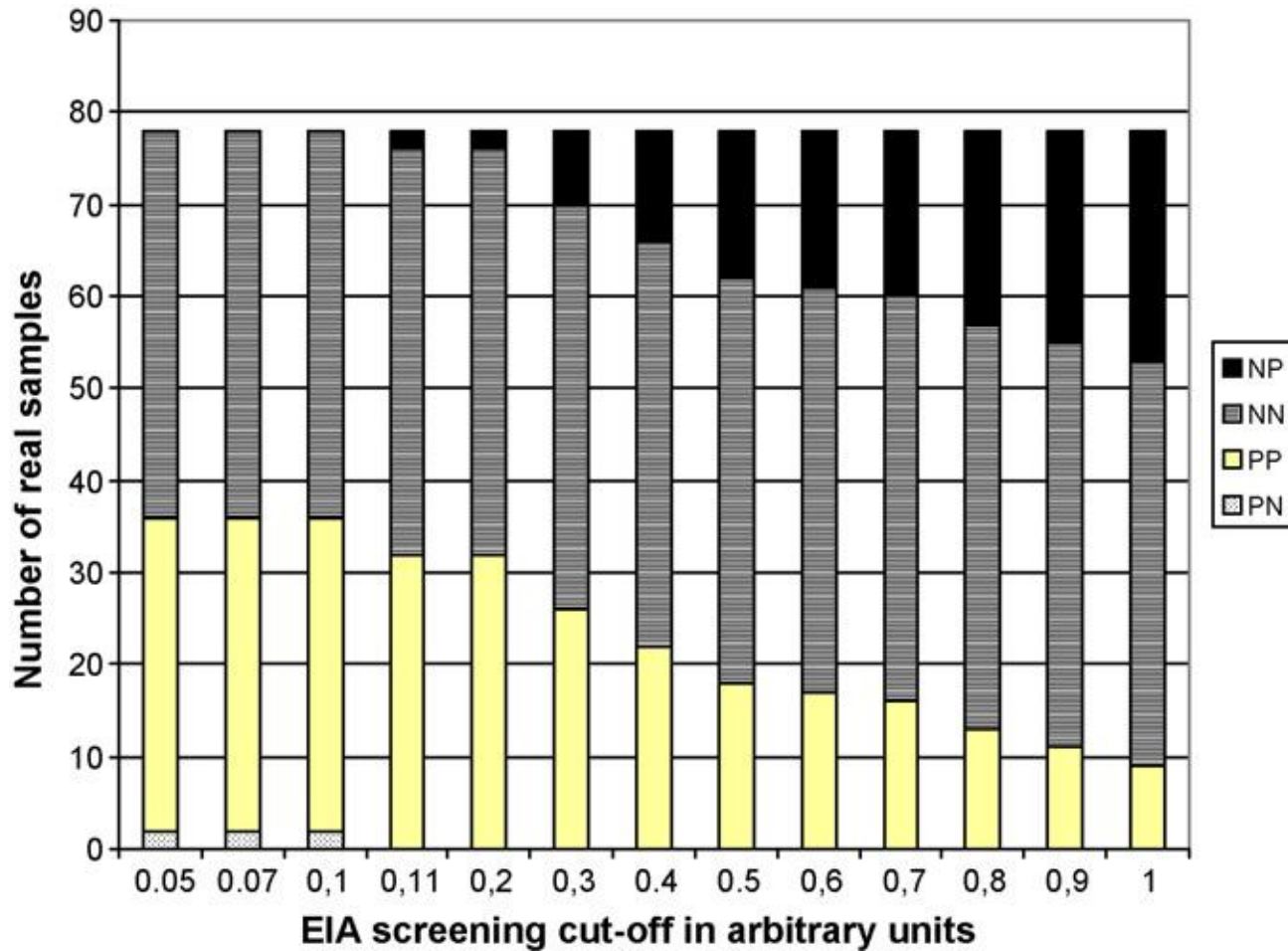


"A worker being tested must be watched by another person while passing the specimen"

EtGH

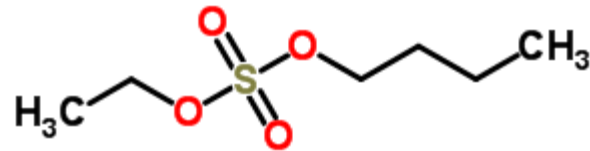
- Şampuan , kozmetik işlemleri
- Gıdayla etkileşim
- Bakteriyel kontaminasyon

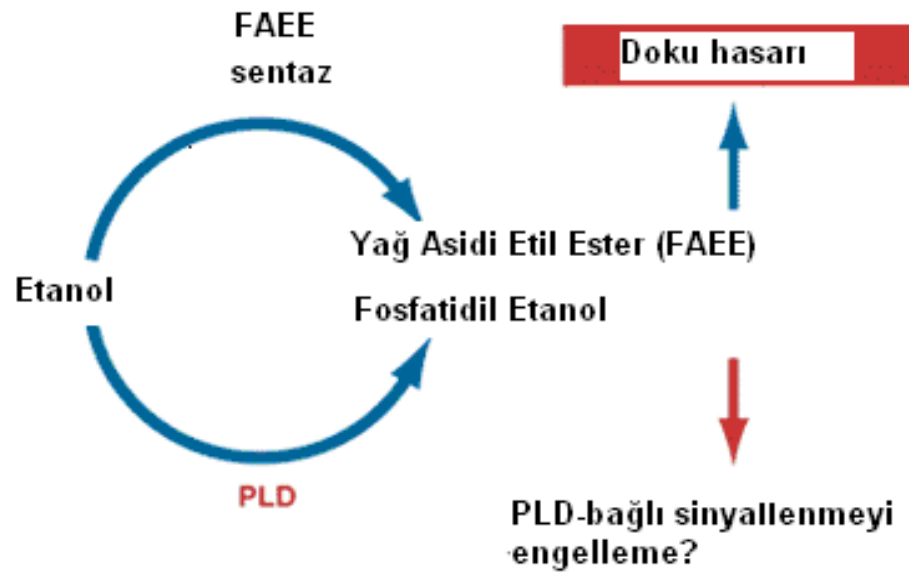
Yanlış negatiflik



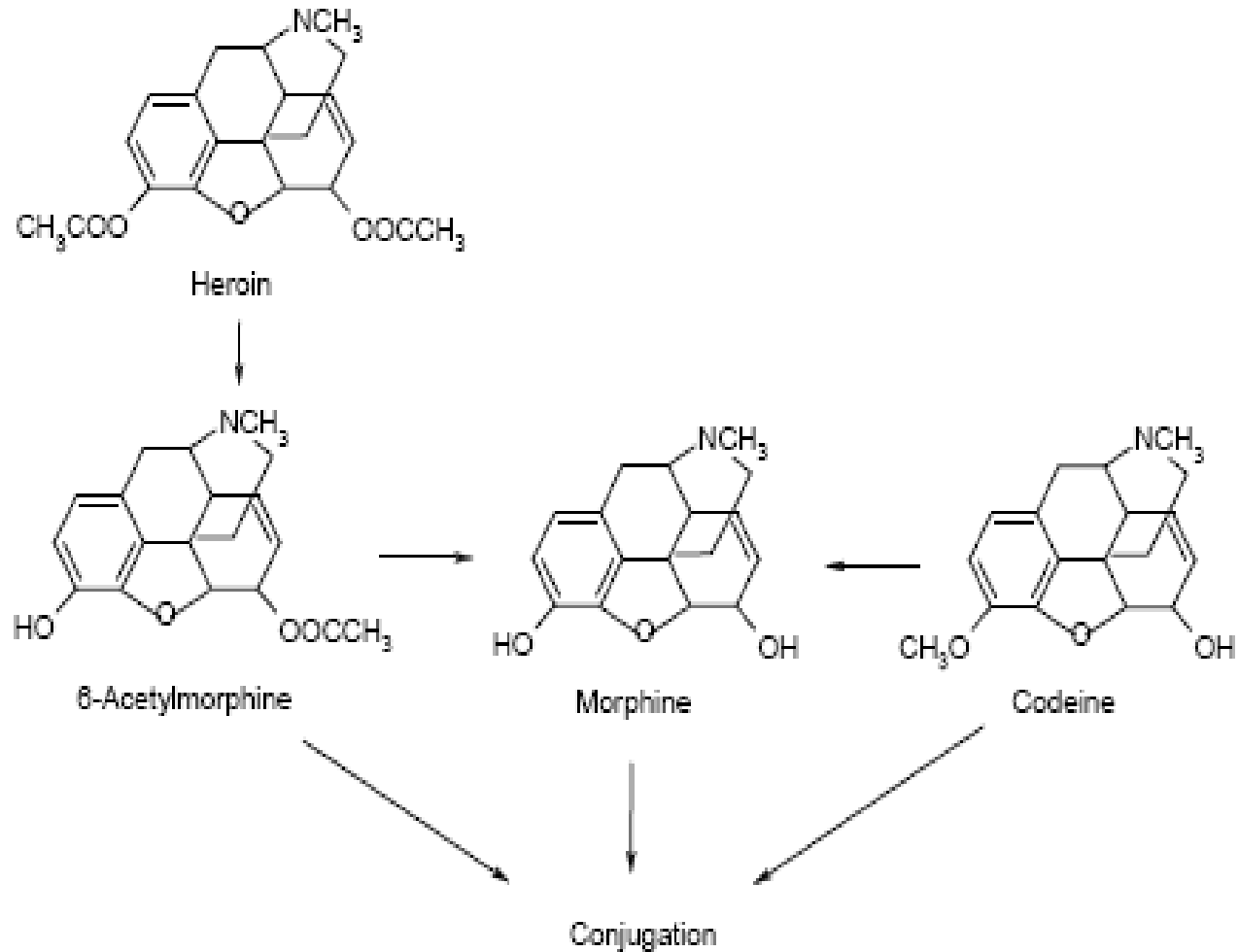
EtS

- Sulfotransferaz → ethyl sulfate (EtS).
- 24 h
- Güvenilir metot/ tam kantitasyon

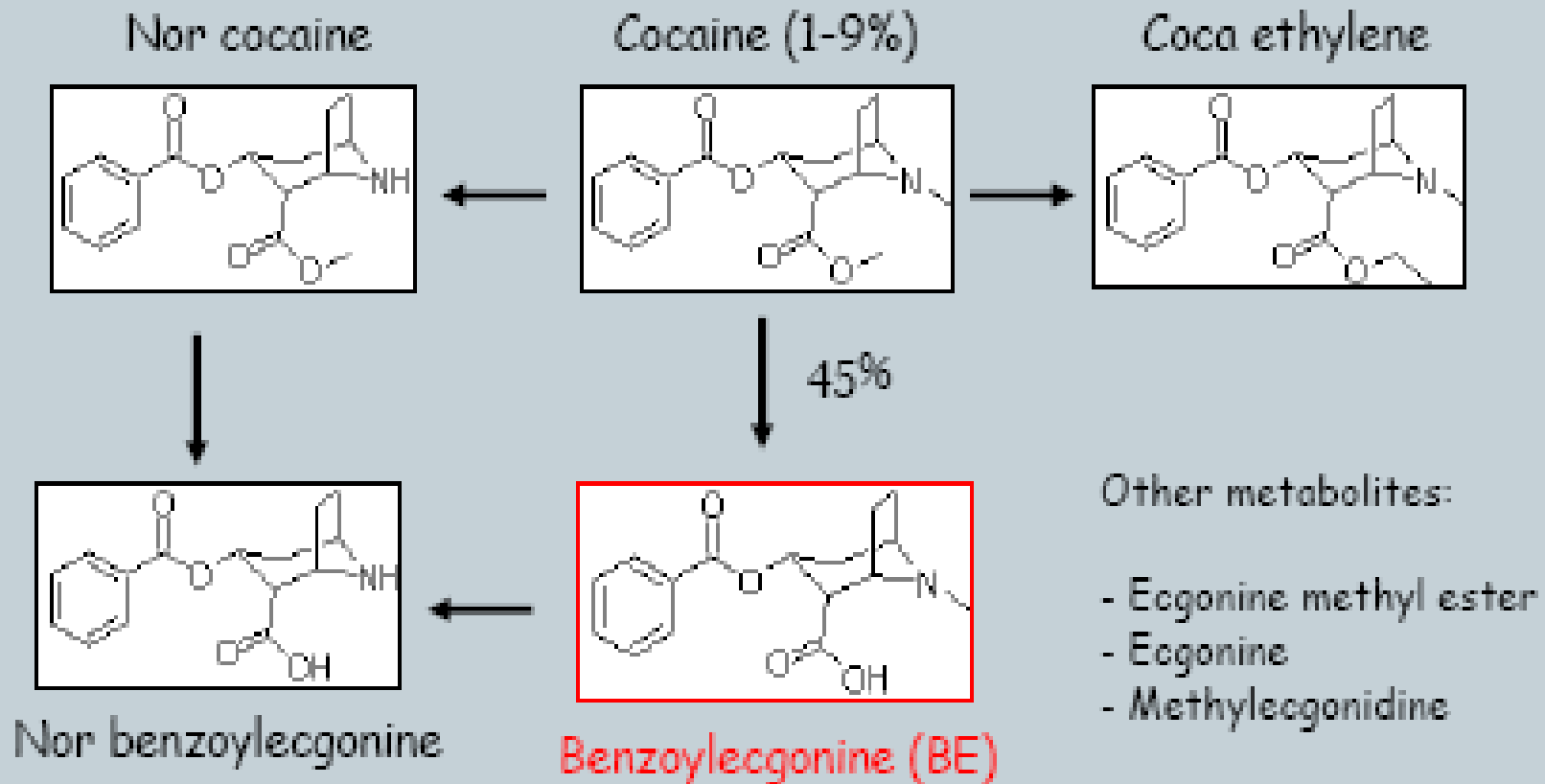




Polimorfik enzimler



Kokain



Drugs or Classes of Drugs	Screening Concentration Equal to or in Excess of ng/mL	Confirmation Concentration Equal to or in Excess of ng/mL
Marijuana metabolites (THC)	4	2
Cocaine metabolites	20	
• Cocaine or benzoylecgonine		8
Opiates	40	
• Codeine		40
Morphine		40
6-acetylmorphine	4	4
Phencyclidine	10	10
Amphetamines/Methamphetamines	50	
• Amphetamine		50
• Methamphetamines		50
MDMA	50	
• MDMA		50
• MDA		50
• MDEA		50

Drug Detection Times in Urine

<u>Drug/Identifier</u>	<u>Minimum</u>	<u>Maximum</u>	<u>Cut-Off Level</u>
Marijuana (THC) †	2 hours	Up to 40+ days	50 ng/ml
Cocaine (COC) †	1-4 hours	2-4 days	300 ng/ml
Methamphetamine (METH) †	2-7 hours	2-4 days	1000 ng/ml
Amphetamines (AMP) †	2-7 hours	2-4 days	1000 ng/ml
Ecstasy (MDMA) †	2-7 hours	2-4 days	500 ng/ml
Opiates (OPI) †	2 hours	2-3 days	2000 ng/ml
Phencyclidine (PCP) †	4-6 hours	7-14 days	25 ng/ml
Benzodiazepines (BZO)	2-7 hours	1-4 days	300 ng/ml
Methadone (MTD)	3-8 hours	1-3 days	300 ng/ml
Barbiturates (BAR)	2-4 hours	1-3 weeks	300 ng/ml
Tricyclic Antidepressants (TCA)	8-12 hours	2-7 days	1000 ng/ml
Oxycodone (OXY)	1-3 hours	1-2 days	100 ng/ml

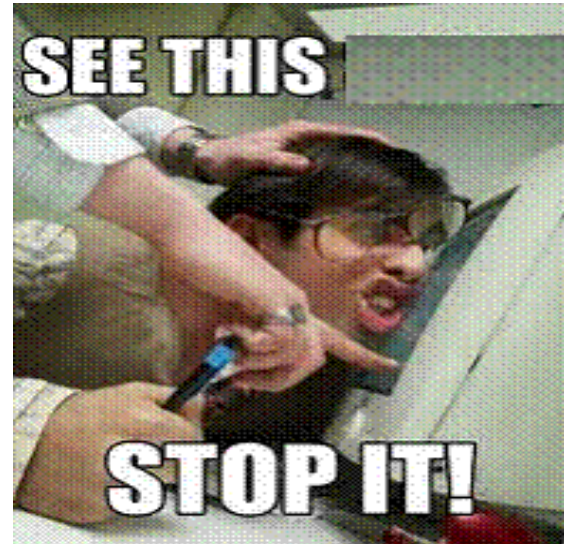
† The Substance Abuse and Mental Health Services Agency (SAMHSA), has set "cut-off" levels when testing for marijuana, cocaine, methamphetamine, amphetamines, ecstasy, opiates, and PCP. First Check is manufactured to conform to those standards. Screening tests may not detect amounts of drugs in a urine sample that are below the cut-off level. Even though some level of drug may be present in a urine sample, the sample would still be considered Negative Result if the drug level is below the cut-off level.

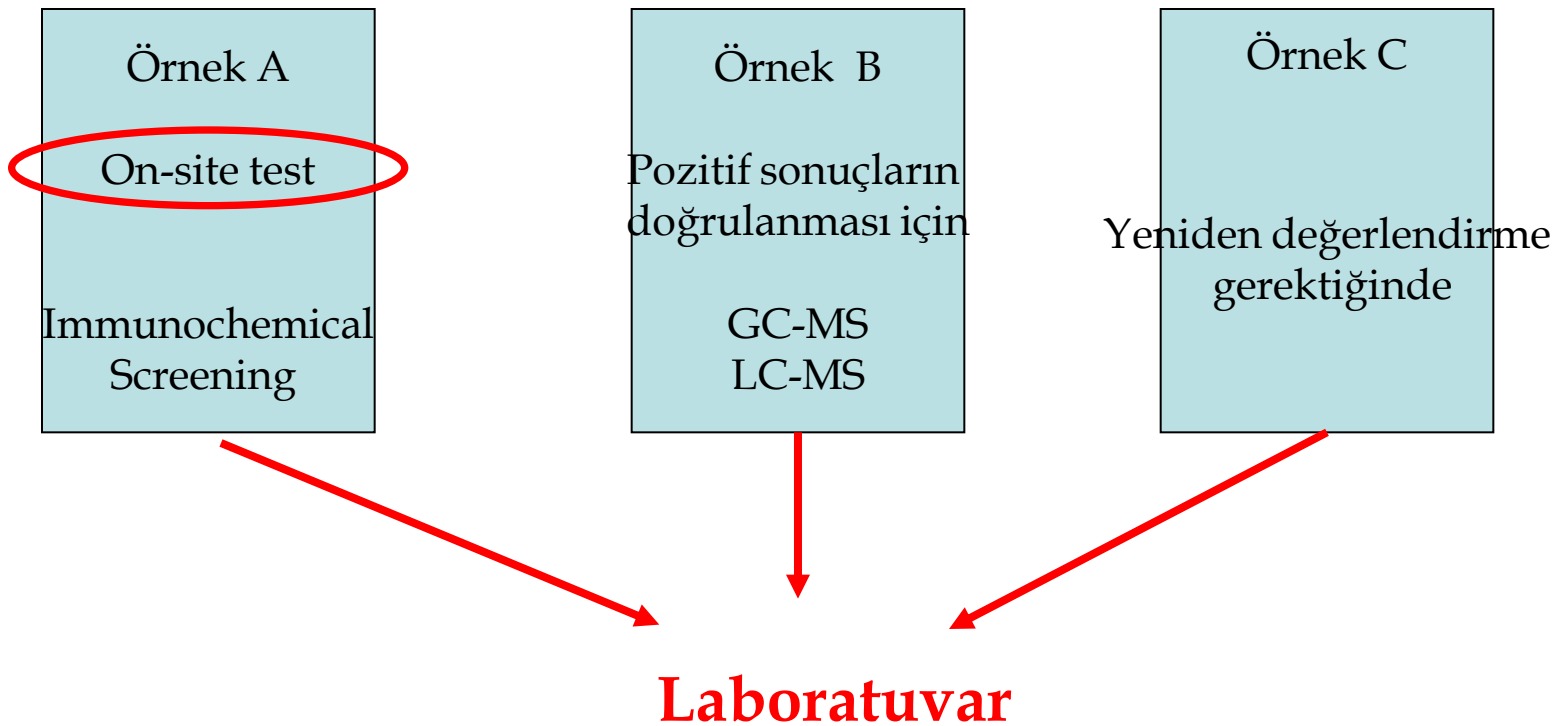
- Örnek vermeyi kabul etmeme
- Örnek verirken olumsuz davranış gösterme
- Örnekte koku/renk değişikliği
- Örnek alımı öncesi pH değişikliğine yol açacak girişimler
- Örneğin laboratuara transferinde girişim



İlgili Yönergeler..Rehberler...?

- ◇ Test yapma zamanı
- ◇ Test yapma yetkisi
- ◇ Test yöntemlerinin seçimi
- ◇ Test sonuçlarının uygulanması-
Yasal/Tedavi/Kurumsal





Urine quantitative: national protocol 60 ml, Lombardy 50 ml, other regions 40 ml

Doğrulama

- ◇ Farklı bir kimyasal prensibe dayalı bir yöntemle maddenin tanımlanması
- Kromatografik yöntemlerin temel ilkesi örnek bileşenlerinin durgun ve hareketli fazlar arasında ayırma uğratılmasına dayanır. Durgun faz olarak genellikle katı destek üzerine emdirilmiş sıvı faz kullanılır. Kullanılan yöntem adını kullanılan hareketli fazın fiziksel konumuna göre gaz (GC) veya sıvı kromatografisi (LC) adını alır.
- √ Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS)
- √ Likid Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (LC-MS)

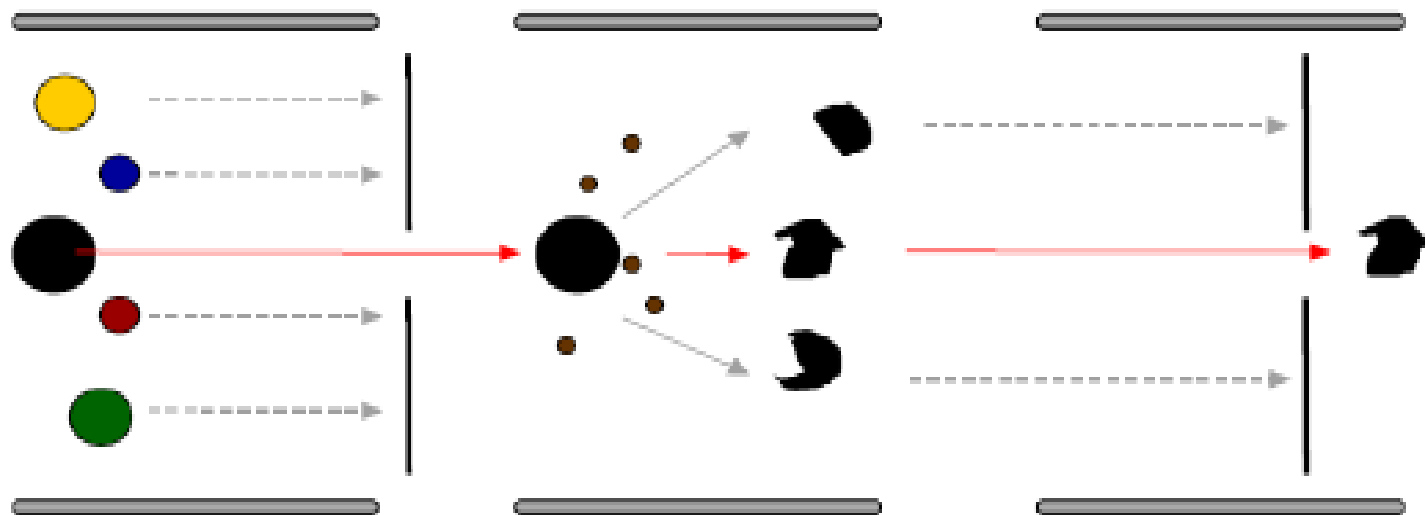
- ◊ Madde nin izolasyonu
- ◊ Gerekiyorsa protein presipitasyonu
- ◊ Konjuge olmuş ilaç veya metabolitinun unkonjügasyonunu yapılması (enzimatik veya asit hidrolizle)
- ◊ İlaç veya metabolitinun türevlendirilmesi

Asit veya enzim hidrolizi; hidroklorik asit, β -glukuronidaz, veya sülfataz ile konjuge grubu artan ısılarda ayırmak için kullanılabilir.
Asidik hidrolizde 6-AM parçalanabileceği için dikkatli kullanılmalıdır.

- İyi türevlendirilemeyen polar maddeler
- Termolabil maddeler
- Yüksek molekülü maddeler
- Kompleks materyaller

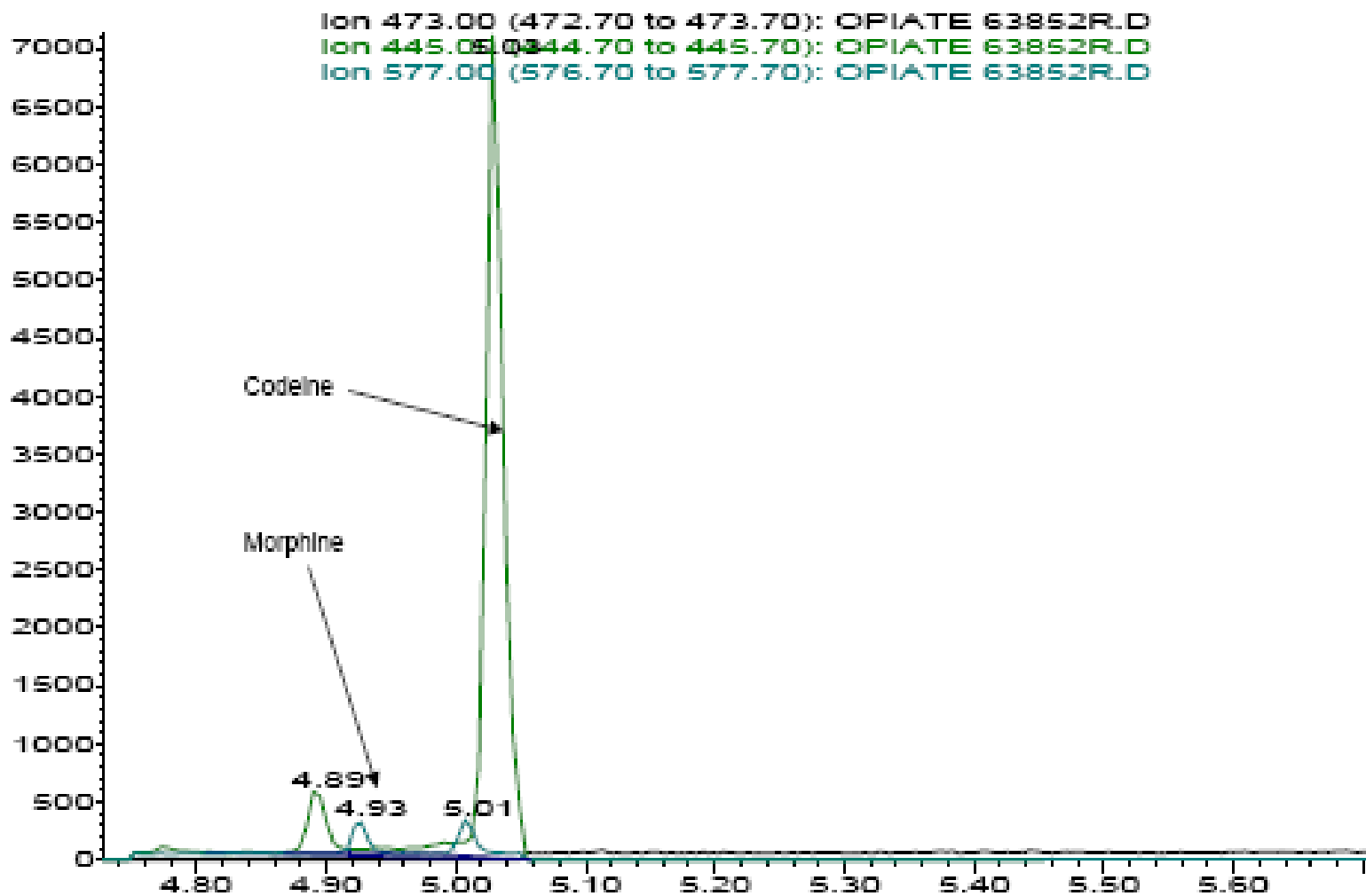
- MS teknik; single quad, time of flight (tof), ion trap, triple quad, q-trap
- İyonizasyon; ESI, APPI, APCI, MALDI

MS/MS Multiple Reaction Monitoring



Best selectivity and highest sensitivity obtainable
on a triple quadrupole instrument

Abundance



Time-->

Analitik aşama valide edilmelidir

- Spesifite (seçimlilik)

Benzer ilaçlardan ayrılması

Girişimsel eğilimin az olması

- Sensitivite (duyarlılık)

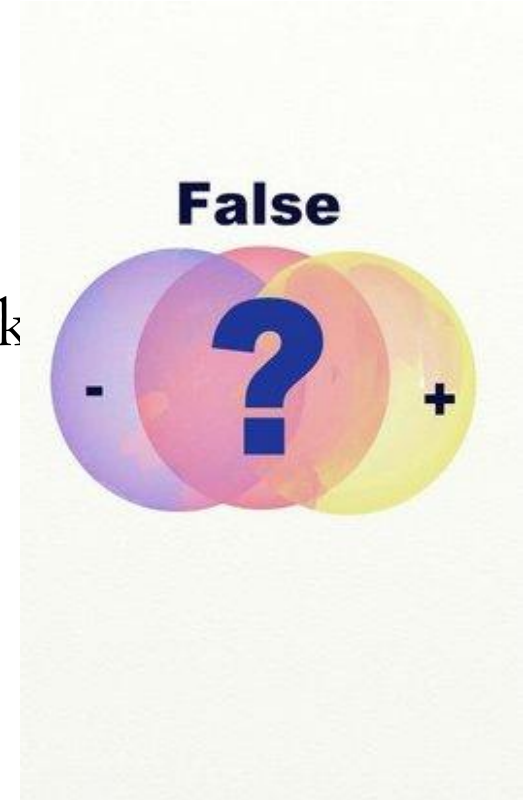
Maddenin saptanabilmesi için örnek bulunmalı (cut-off kullanılması)

- Kalibrasyon eğrisi ve linearite

- Kesinlik/doğruluk

- Gerikazanım

- Matriks etkisi





TOXICITY TESTING IN THE 21ST CENTURY: A VISION AND STRATEGY



- Ne yaptığımız hakkında nasıl ve ne kadar düşünüyoruz?
- Teknolojiye ne kadar güvenebiliriz?

- En iyi, en yeni madde testi yöntemlerinin kullanılması en kaliteli veriyi sağlayabilir mi?

- İleri teknoloji
- Güncelleştirilmiş prosedürler
- Tam eğitilmiş ve kalifiye eleman
- Efektif kalite sistemleri
- Bilimsel farkındalık

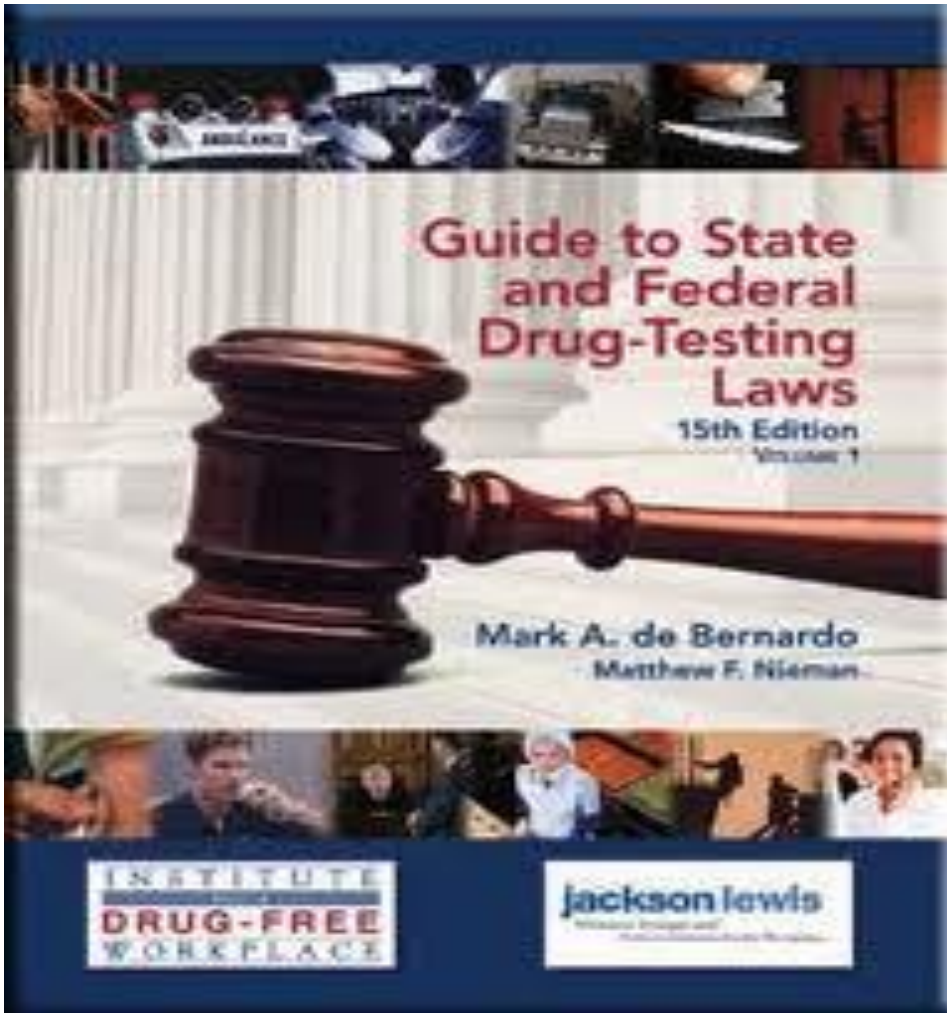


Alkol ve madde testi

- Klasik adli toksikoloji
- İdrar madde testi
- İnsan performans testi
- Mesleki toksikoloji
- İşyeri madde testi



Yönergeler... mevzuat...?





30 KASIM-1 ARALIK
2013

ULUSLARARASI
KATILIMLI UYDU
SEMPOZYUMU

“İşyeri ve Madde kullanımı”

- Dünyada madde testi
- Türkiye’deki uygulamalar
- Yasal sorumluluklar
- Yönerge ve kılavuzlar



TEŞEKKÜRLER