

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
BAĞIMLILIK VE ADLİ BİLİMLERİ
ENSTİTÜSÜ
ADLİ BİLİMLER ANABİLİM DALI

**NEFESTE UYUŞTURUCU MADDE TESPİTİ İÇİN ÖRNEK
TOPLAMA CİHAZI GELİŞTİRİLMESİ VE YÖNTEM
VALİDASYONU**

Aslı ATASOY AYDIN

**ADLİ BİLİMLER ANABİLİM DALI DOKTORA PROGRAMI
DOKTORA TEZİ**

DANIŞMANLARI

**Prof. Dr. Nigar YARPUZ BOZDOĞAN
Prof. Dr. Nebile DAĞLIOĞLU**

ADANA-2024

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
BAĞIMLILIK VE ADLİ BİLİMLERİ
ENSTİTÜSÜ
ADLİ BİLİMLER ANABİLİM DALI

NEFESTE UYUŞTURUCU MADDE TESPİTİ İÇİN ÖRNEK TOPLAMA CİHAZI GELİŞTİRİLMESİ VE YÖNTEM VALİDASYONU

Aslı ATASOY AYDIN

**ADLİ BİLİMLER ANABİLİM DALI DOKTORA PROGRAMI
DOKTORA TEZİ**

DANIŞMANLARI

**Prof. Dr. Nigar YARPUZ BOZDOĞAN
Prof. Dr. Nebile DAĞLIOĞLU**

Bu tez, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından TDK-2022-14618 Nolu proje ile desteklenmiştir.

ADANA-2024

KABUL ve ONAY



**T.C. ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ BAĞIMLILIK VE ADLİ
BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI
ETİK BEYANI**

Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesini okuduğumu ve anladığımı ve Çukurova Üniversitesi Bağımlılık ve Adli Bilimler Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Tez olarak sunduğum bu çalışmanın özgün olduğunu bildirir, aksi bir durumda bu konuda hakkımda yapılacak tüm yasal işlemleri ve aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim. 04 / 07 / 2024

Aslı ATASOY AYDIN

Kayıtlı olunan Program	: Adli Bilimler
Tezin Konusu	: Nefeste Uyuşturucu Madde Tespiti İçin Örnek Toplama Cihazı Geliştirilmesi ve Yöntem Validasyonu
Tezin Türü	: Yüksek Lisans: ☐ Doktora: ☒
Danışmanın Adı-Soyadı	: Prof. Dr. Nigar YARPUZ BOZDOĞAN

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanmasında değerli katkılarını esirgemeyen, her aşamasında yol gösterici ve destekleyici olan kıymetli hocam Sayın Prof. Dr. Nebile DAĞLIOĞLU'na sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Kendisi, engin bilgi ve deneyimleri ile çalışmalarımın her aşamasında bana rehberlik etmiş, sabrı ve özverisi ile tezimin bu noktaya gelmesinde büyük rol oynamıştır. Ayrıca, araştırma sürecinde karşılaştığım zorlukların üstesinden gelmemde bana olan inancı ve verdiği motivasyon için minnettarım.

Tezimle ilgili danışmanlığıma atandığı günden bu yana, akademik ve profesyonel rehberliği, önerileri ve titiz değerlendirmeleri ile tezimin bilimsel değerini yükselten tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Nigâr YARPUZ BOZDOĞAN'a minnettarlığımı ifade etmek isterim.

Çalışmalarımı gerçekleştirebilmem için gerçek örneklerin toplanma sürecinde yardımlarını esirgemeyen Sayın Uzm. Dr. İnci SAĞLAM'a ve Uzm. Dr. Cengiz CENGİSİZ'e

Laboratuvar çalışmalarında desteğini ve emeğini esirgemeyen, her daim yardımına koşan, Sayın Öğr. Gör. Dr. İsmail Ethem GÖREN'e,

TDK-2022-14618 proje kodlu Doktora Tez Araştırma Fonuyla tezin gerçekleştirilmesinde katkıda bulunan Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Birimi'ne,

Teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Son olarak tezimin hazırlanmasında manevi desteği, sabrı ve anlayışı ile bana güç veren, her zaman yanımda olup beni cesaretlendiren, zor anlarımda moral kaynağım olan sevgili eşim İshak AYDIN'a sonsuz teşekkür etmek isterim.

İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY	ii
ETİK BEYANI	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
DENKLEMLER DİZİNİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR	xii
ÖZET	xiv
ABSTRACT.....	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİ.....	3
2.1. Psikoaktif Maddelerin Tanımı.....	3
2.2. Psikoaktif Maddelerin Sınıflandırılması ve Tarihçesi.....	4
2.2.1. Esrar.....	4
2.2.2. Amfetamin Tipi Stimülanlar.....	8
2.2.3. Kokain	11
2.2.4. Opioidler.....	13
2.2.4.1. Morfin	15
2.2.4.2. Kodein.....	15
2.2.4.3. Hidrokodon	16
2.2.4.4. Hidromorfon.....	16
2.2.4.5. Eroin.....	16
2.2.4.6. Meperidin	17
2.2.4.7. Fentanil ve Türevleri	17
2.2.4.8. Metadon	18
2.2.4.9. Tramadol	19
2.2.4.10. Buprenorfin	19

2.2.4.11. Yeni Sentetik Opioidler.....	20
2.2.5. Halüsinojenler.....	20
2.2.6. Gabapentinoidler	21
2.3. Ülkemizdeki Psikoaktif Maddeler ile İlgili Yasal Düzenlemeler	22
2.3.1. Uluslararası Anlaşmalar ve Sözleşmeler	22
2.3.2. 2709 sayılı Türkiye Cumhuriyeti Anayasası	23
2.3.3. Kanun ve Yönetmelikler	23
2.3.3.1. 2313 sayılı Uyuşturucu Maddelerin Murakabesi Hakkında Kanun ..	23
2.3.3.2. 3298 sayılı Uyuşturucu Maddelerle İlgili Kanun	24
2.3.3.3. 5237 sayılı Türk Ceza Kanunu	24
2.3.3.4. 5271 sayılı Ceza Muhakemesi Kanunu	25
2.3.3.5. 2918 Sayılı Karayolları Trafik Kanunu (KTK).....	26
2.3.3.6. 4721 sayılı Türk Medeni Kanunu.....	26
2.4. Psikoaktif Maddelerin Biyolojik Örneklerden İzlenmesi	27
2.4.1. Kan	27
2.4.2. İdrar	27
2.4.3. Saç	28
2.4.4. Ter	29
2.4.5. Tükürük (Ağız İçi Sıvısı)	30
2.4.6. Nefes	31
2.4.6.1 Nefesin Oluşum Mekanizması ve Psikoaktif Maddelerin Tespiti	31
2.5. Kromatografi	33
2.5.1. Sıvı Kromatografisi	34
2.5.2. Sıvı Kromatografisi- Ardışık (Tandem) Kütle Spektrometresi (LC-MS/MS)	35
2.6. Validasyon.....	36
2.6.1. Seçicilik (selectivity)	37
2.6.2. Özgüllük (specifity).....	37
2.6.3. Doğrusallık (linearity)	37
2.6.4. Tespit Limiti (LOD) ve Tayin Limiti (LOQ).....	38
2.6.5. Doğruluk (Accuracy) ve Kesinlik (precision)	39

2.6.6. Matris Etkisi (matrix effect)	40
2.6.7. Taşınma (Carry-over)	41
2.6.8. Stabilité (stability)	41
3. GEREÇ VE YÖNTEM	43
3.2. Kullanılan Kimyasallar	43
3.2. Kullanılan Ekipmanlar	44
3.3. Nefes Toplama Cihazının Geliştirilmesi ve Optimizasyonu.....	45
3.3.1. Uygun Malzeme Seçimi	45
3.3.2. Üretim Metodu	46
3.4. Ekstraksiyon Yöntemlerinin Optimizasyonu	47
3.5. LC-MS/MS Analiz Parametreleri	48
3.6. Validasyon Çalışmaları	53
3.6.1. Seçicilik.....	53
3.6.2. Doğruluk	53
3.6.3. Tespit ve Tayin Limiti	53
3.6.4. Doğruluk ve Kesinlik	54
3.6.5. Matris Etki	54
3.6.6. Stabilité	54
3.7. Gerçek örneklerin Analizi.....	55
3.8. Verilerin İstatistiksel Analizi	55
4. BULGULAR.....	57
4.1. Yöntem Optimizasyonu	57
4.2. Metot Validasyonu	58
4.2.1. Seçicilik.....	58
4.2.2. Doğrusallık.....	59
4.2.3. Tespit ve Tayin Limiti	60
4.2.4. Doğruluk ve Kesinlik	61
4.2.5. Matris etkisi.....	64
4.2.6. Stabilité	65
4.3. Gerçek örnekler	68

5. TARTIŞMA	72
5.1. Metot Optimizasyonu	73
5.2. Validasyon.....	74
5.3. Gerçek Örnek Uygulaması	79
6. ÇALIŞMANIN KISITLILIKLARI	84
7. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	85
KAYNAKLAR	86
EKLER.....	92
EK-1: Bu tez çalışması sırasında örnek alınan kişilere uygulanan anket formu.....	92
EK-2: Bu tez çalışması sırasında örnek alınan kişilere uygulanan onam formu.....	93
EK-3: Etik Kurul Belgesi	94
ÖZGEÇMİŞ	95

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Cannabis Sativa L. bitkisinin görüntüsü.....	5
Şekil 2. Esrarın ana psikoaktif bileşeni olan Δ^9 - tetrahidrokanabinol (THC), eşdeğer metaboliti 11-hidroksi-THC (11-OH-THC) ve birincil inaktif metaboliti olan 11-nor-9-karboksi-THC (THCCOOH) için başlıca metabolik yollar. Ayrıca minör kenevir bitkisi kannabinoidlerini, kannabinol (CBN) ve kannabidiol (CBD).....	7
Şekil 3. Amfetamin Tipi Stimülanların kimyasal yapıları	10
Şekil 4. Erythroxylum Coca bitkisi görüntüsü.....	12
Şekil 5. Kokainin iki farklı formu. A: Toz kokain, B: Crack kokain.....	13
Şekil 6. Opioid analjeziklerin kimyasal yapıları.....	14
Şekil 7. GABA'nın yapısı: gabapentin ve pregabalin.	21
Şekil 8. Alveolar kapillerdeki gaz alışverişi	32
Şekil 9. Alıkonma zamanına ait kromatogram görüntüsü.....	33
Şekil 10. HPLC sistemine ait şematik gösterim.....	35
Şekil 11. Ardışık kütle spektrometresi sisteminin şematik gösterimi.	36
Şekil 12. 3D printer'la üretilen Nefes Toplama aparatı ve içerisindeki filtrelerin görüntüsü	46
Şekil 13. DeneySEL çalışmaların yapıldığı LC-MS/MS sisteminin görüntüsü	48
Şekil 14. Gradyent programının A ve B mobil fazlarına göre akış ve zaman tablosu.	50
Şekil 15. ILIS eklenmemiş blank metanol örneğinin total iyon kromatogramı	58
Şekil 16. ILIS eklenmiş blank metanol örneğinin total iyon kromatogramı	59
Şekil 17. ILIS ve analit eklenmiş nefes örneğine ait total iyon kromatogramı	59
Şekil 18. Uyarıcıların +4, +24 ve -20 °C sıcaklıklardaki 7 günlük % değişim stabiliteleri	66
Şekil 19. Opioidlerin +4, +24 ve -20 °C sıcaklıklardaki 7 günlük % değişim stabiliteleri	66
Şekil 20. Diğer hedef analitlerin +4, +24 ve -20 °C sıcaklıklardaki 7 günlük % değişim stabiliteleri.....	67
Şekil 21. Nefes ve kan örneklerinde tespit edilen metamfetamin konsantrasyonlarının olgulara göre dağılımı	71
Şekil 22. Nefes ve kan örneklerinde tespit edilen amfetamin konsantrasyonlarının olgulara göre dağılımı ..	71

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Farklı biyolojik örneklerin birbirlerine göre bazı avantaj ve dezavantajları	31
Tablo 2. Deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasallar ve marka bilgileri.	43
Tablo 3. Deneysel çalışmalarda kullanılan sertifikalı referans standart madde listesi	44
Tablo 4. Deneysel çalışmalarda kullanılan ekipmanlar, analitik sistemler ve marka bilgileri.	45
Tablo 5. Filtre malzemelerinin kimyasal uyumluluk tablosu	46
Tablo 6. Optimize edilen LC-MS/MS cihazının parametreleri.	49
Tablo 7. LC-MS/MS cihazının optimize edilen analiz gradient programı.	49
Tablo 8. Analitler için elde edilen LC-MS/MS cihazının MRM geçişleri ve MS/MS parametreleri.	50
Tablo 9. Tezde uygulanan farklı ekstraksiyon yöntemlerine ait % GK sonuçları	57
Tablo 10. Analitlere ait doğrusallık çalışması kapsamında gerçekleştirilen kalibrasyona aralıkları, korelasyon katsayı, LOD ve LOQ sonuçları	60
Tablo 11. Yöntemin doğruluk çalışmaları aşamasındaki % geri kazanım (GK) ve % bağıl standart sapma (RSD) sonuçları (gerçeklik sonuçları)	61
Tablo 12. Düşük konsantrasyon (15, 50 ve 75 pg/filtre) noktaları ile yapılan gün içi ve günler arası tekrar edilebilirlik (n=6) sonuçları	62
Tablo 13. Orta konsantrasyon (75 ve 250 pg/filtre) noktaları ile yapılan gün içi ve günler arası tekrar edilebilirlik (n=6) sonuçları	63
Tablo 14. Yüksek konsantrasyon (350 pg/filtre) noktası ile yapılan gün içi ve günler arası tekrar edilebilirlik (n=6) sonuçları	64
Tablo 15. Her bir hedef analitin matris etkisi (%) sonuçları	65
Tablo 16. Olguların demografik verileri	68
Tablo 17. Gerçek örneklerde çalışılan hedef analitlerin analiz sonuçları (n=3)	69
Tablo 18. Olguların nefes, kan ve idrar örneklerinde tespit edilen hedef analitlerin bulunma sıklığı	70

DENKLEMLER DİZİNİ

Denklem 1. Yüzde Geri kazanım hesaplama formülü.....	39
Denklem 2. Standart sapma formülü.....	40
Denklem 3. Bağlı standart sapma formülü	40



SİMGELER VE KISALTMALAR

MOR	: Morfin
COD	: Kodein
AC-COD	: Asetil Kopdein
AMP	: Amfetamin
METHAMP	: Metamfetamin
COC	: Kokain
BZG	: Benzoilekgonin
NCOC	: Norkokain
COCE	: Kokaetilen
TEB	: Tebain
MTG	: Mitraginin
XYL	: Ksilazin
BUP	: Buprenorfin
KET	: Ketamin
GABAP	: Gabapentin
PRGB	: Pregabalin
İLİS	: İç Standart
LC-MS/MS	: Sıvı Kromatografi Tandem Kütle Spektrometresi
LOD	: Tespit Sınırı
LOQ	: Kantitasyon Limiti
MRM	: Çoklu reaksiyon izleme
TCK	: Türk Ceza Kanunu
THC	: Tetrahidrokannabinol
EWDTS	: Avrupa iş yeri madde testi
MSS	: Merkezi sinir sistemi
MDMA	: Metilendioksimetamfetamin
LSD	: Liserjik asit
WHO	: Dünya sağlık örgütü
BM	: Birleşmiş milletler
UNODC	: Birleşmiş milletler uyuşturucu ve suç ofisi
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
CBN	: Kannabinol
CBD	: Kannabidiol
FDA	: Gıda ve ilaç idaresi
ATS	: Amfetamin tipi sitimülanlar

MDA	: Metilendioksiamfetamin
CDC	: Hastalık kontrol ve önleme merkezi
SNRI	: Seretonin-noepinefrin geri alım inhibitörü
NSO	: Yeni sentetik opioid
PCP	: Fensiklidin
KTk	: Karayolları trafik kanunu
ESI	: Elektrosprey iyonizasyon
APPI	: Atmosferik basınç fotoiyonizasyon
ANSI/ASB	: Amerikan Ulusal Standartları/Akademi Standartları Kurulu
AAFS	: Amerikan Adli Bilimler Akademisi
SD	: Standard sapma
RSD	: Yüzde bağıl standard sapma
CE	: Çarpışma enerjisi
RT	: Alıkonma zamanı
V	: Voltaj

ÖZET

Nefeste Uyuşturucu Madde Tespiti İçin Örnek Toplama Cihazı Geliştirilmesi ve Yöntem Validasyonu

Madde kullanım bağımlılığı dünyadaki hemen hemen her toplumu etkileyen ciddi bir halk sağlığı ve güvenliği sorunudur. Bu maddelerin kullanımı zihinsel ve fiziksel bozukluğa neden olmakta, yaşamı tehdit edici sonuçlara yol açabilmektedir. Bu sebeple psikoaktif maddelerin analizi adli ve klinik uygulamalar gibi birçok alanda oldukça önemlidir. Özellikle psikoaktif maddelerin etkisi altında araç kullanımı genellikle kaza riskinde artışa neden olarak kamu güvenliği için bir tehdit oluşturmaktadır. Bu maddelerin araştırılması için kullanılan en tipik biyolojik örnekler ise kan, idrar, oral sıvı, ter, tükürük ve saçtır. Nefes testi ise, son zamanlarda psikoaktif maddelerin tespiti için kullanılan biyolojik bir yöntemdir.

Ekshalasyonla (nefes verme) dışarı atılan aerosol mikropartiküller, akciğer alveollerindeki uçucu olmayan bileşikleri taşımaktadır. Bu aerosol mikropartiküller toplanıp analiz edildiğinde, yasal ve yasa dışı maddelerin tespiti için girişimsel olmayan ve kolayca elde edilebilen bir örnek oluşturmaktadır. Bu tez çalışmasında nefes toplama cihazı geliştirilerek, bağımlılık merkezinden toplanan nefes örneklerinde psikoaktif maddelerin analizi amaçlanmaktadır. Kişilerden ayrıca kan ve idrar örnekleri referans örnek olarak toplanmıştır. Tez kapsamında toplamda 20 kişiden aynı anda nefes, kan ve idrar örnekleri toplanmıştır. Örnekler sıvı kromatografisi–tandem kütle spektrometrisi (LC-MS/MS) cihazında geliştirilen analiz yöntemi ile çalışılmıştır. Yöntemin tez kapsamında bakılan 24 farklı hedef analitler için kantitasyon limitleri (LOQ) 0.4-48.1 pg/filtre arasında tespit edilmiştir. 20 vakanın 19'u (%95) nefes örneğinde en az bir madde için pozitif bulunmuştur. En sık tespit edilen maddeler arasında METHAMP yer almaktadır. METHAMP, kan örneklerinde 16 vakada, nefes örneklerinde de 16 vakada tespit edilmiştir. Ayrıca, 2 vakanın nefes örneğinde METHAMP pozitif bulunmasına rağmen, bu vakaların kan örnekleri negatif, idrar örnekleri ise pozitif olarak tespit edilmiştir. Nefeste ortalama METHAMP konsantrasyonu 78 pg/filtre tespit edilmiştir.

Bu tez çalışması ile, ekshalasyon sırasında vücuttan dışarı atılan nefesten psikoaktif maddelerin analiz edilebildiği ve nefesin kullanışlı bir örnek olduğu sonucuna varılmıştır. Sonuçlar, nefeste psikoaktif maddelerin tespit edilebilirliği için kullanılan analitik cihazların yüksek hassasiyette olması gerektiğini de göstermektedir.

Sonuç olarak, bu tez çalışması ile ülkemizde ilk kez nefeste psikoaktif madde analizi için *Nefes Toplama Cihazı* geliştirilerek, cihazın ve nefes örneğinin kullanılabilirliği ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: Nefes, Adli Toksikoloji, Psikoaktif Madde Analizi, LC-MS/MS

ABSTRACT

Development of a Breath Collection Device for The Detection of Illicit Drugs and Method Validation

Drug abuse is a serious public health and safety issue that affects almost every society in the world. The use of these substances can lead to mental and physical disorders and life-threatening consequences. Therefore, the analysis of licit and illicit drugs is of great importance in many areas, such as forensic and clinical applications. In particular, driving under the influence of psychoactive substances often poses a threat to public safety by increasing the risk of accidents. The most typical biological specimens used to test for these substances are blood, urine, oral fluid, sweat, saliva and hair. However, breath testing has recently emerged as a biological method for the detection of psychoactive substances.

Exhaled (breathed out) aerosol microparticles carry non-volatile compounds from the alveoli in the lungs. When collected and analyzed, these aerosol microparticles provide a non-invasive and readily available sample for the detection of licit and illicit drugs. This thesis study aims to analyze psychoactive substances in breath samples collected from an addiction center by developing a breath collection device. Blood and urine samples were also collected from individuals as reference samples. A total of 20 individuals' breath, blood and urine samples were collected simultaneously as part of the thesis. The samples were analyzed using the liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) method developed. The limits of quantification (LOQ) for the 24 different target analytes ranged from 0.4 to 48.1 pg/filter. In 19 out of 20 cases (95%) at least one substance was found positive in the breath samples. One of the most commonly detected substances was METHAMP. METHAMP was detected in blood samples in 16 cases and also in breath samples in 16 cases. Furthermore, in 2 cases where METHAMP was found positive in breath samples, the blood samples of these cases were negative while the urine samples were positive. The average concentration of METHAMP in breath was found to be 78 pg/filter.

This thesis study concluded that psychoactive substances can be analyzed from breath exhaled from the body and that the breath sample is a useful sample. The results also showed that high analytical sensitivity is required to detect psychoactive substances.

As a result, with this thesis study, for the first time in our country, a breath collection device was developed for the analysis of psychoactive substances in breath, and the usability of the device and the breath sample was demonstrated.

Keywords: Breath, Forensic Toxicology, Psychoactive Substances Analysis, LC-MS/MS

1. GİRİŞ

Bitkisel kökenli ve/veya bir takım kimyasal yollarla oluşturulmuş sentetik moleküllerden elde edilen, merkezi sinir sistemini etkileyerek fiziksel ve/veya ruhsal olarak sakinleştirici ve/veya uyarıcı etkileri olan ve kişide sürekli kullanıma bağlı olarak zamanla daha fazla kullanma isteği uyandıran ve alınmadığında yoksunluk belirtileri gösteren tüm maddeler psikoaktif maddedir. Yıkıcı sonuçlarına rağmen bu maddelerin kullanılmasına devam edilmesi ise madde kullanım bağımlılığı olarak tanımlanmaktadır.

Psikoaktif madde kullanımı, bireyde yol açtığı sağlık sorunlarının yanında, ayrıca sosyal, ekonomik ve güvenlik problemlerine de yol açmaktadır. Tüm dünyada önemi her geçen gün artan çok boyutlu ve yaygınlaşan bu soruna karşı, toplumun tüm kesimlerini içine alan topyekûn bir mücadele gerekmektedir. Madde kullanımının yaygınlaşmasının ve madde kullanıcılarının kendilerine ve topluma zarar vermelerini önlemenin yollarından biri de iş yerlerinde, trafikte, denetimli serbestlik sırasında, doping kontrolünde madde testlerinin yapılmasıdır. Özellikle psikoaktif maddelerin etkisi altında araç kullanımı kaza riskinde artışa neden olmakta ve kamu güvenliği için bir tehdit oluşturmaktadır.

Psikoaktif madde analizleri klinik ve adli laboratuvar uygulamalarının önemli bir ortak sorunudur. Bu maddelerin araştırılması için kullanılan en tipik yöntemler genellikle kan, idrar, oral sıvı, saç gibi biyolojik örneklerin analizleridir. Nefes testi ise, son zamanlarda yasa dışı ve suistimal edilen maddelerin tespiti için alternatif bir matris olarak tanımlanmıştır.

Günümüzde altın standart olarak tanımlanan analiz yöntemleri; ticari immünokimyasal reaktifler ile ön tarama ve takiben kütle spektrometrisi kullanarak doğrulama yapılmasıdır. Bununla birlikte, son yıllarda, biyoanalitik tekniklerin hassasiyeti oldukça geliştiğinden farklı alternatif biyolojik örneklerin kullanımına olan ilgi artmıştır. Bu alternatif örneklerden biri olan nefes örneğinin diğer biyolojik örneklerle göre avantajı; girişimsel olmaması, mahremiyet ihlali riski olmadan örnek toplamayı mümkün kılması ve tıbbi personele ihtiyaç duyulmadan gerçekleştirilebilen uygun örnekleme prosedürü içermesidir. Tüm bunlar, maliyet tasarrufuna ve daha fazla örnek toplamaya imkân sağlamaktadır.

Bu doktora tezinin amacı ise, ülkemizde henüz üretimi ve kullanımı olmayan nefeste psikoaktif madde analizi için ***nefes toplama cihazı*** geliştirmek ve cihazın yöntem validasyonunu gerçekleştirmektir. Bu amaç doğrultusunda geliştirilen ve validasyonu yapılan nefes toplama cihazı ile psikoaktif madde kullanıcılarından nefes örnekleri toplanarak gerçek sonuçlar da sunulacaktır. Ayrıca kişilerden toplanan nefes örneklerinin sonuçları, aynı kişilerden toplanan kan ve idrar örneklerinin sonuçları ile karşılaştırılıp yorumlanacaktır.



2. GENEL BİLGİ

2.1. Psikoaktif Maddelerin Tanımı

Psikoaktif maddeler ya da narkotikler, farmakolojik özellikleri nedeniyle merkezi sinir sisteminde (MSS) sakinleştirici ve/veya uyarıcı etkileri olan, birçoğu ağrı kesici ve kişide ruhsal ve fiziksel bağımlılık oluşturan maddelerdir ¹. Bir başka tanımı ise kullanıcı üzerindeki potansiyel zararlı etkisi nedeniyle bulundurulması veya tedarik edilmesi kanunla kısıtlanmış maddelerdir. Bu tür maddeler kontrole tabi maddeler olarak bilinir. Bunlar yarı sentetik maddeleri (kokain, diamorfin, vb.), sentetik maddeleri (metamfetamin, metilendioksimetamfetamin (MDMA), lizergid (LSD), vb.) ve bitkisel maddeleri (kenevir, khat, vb.) kapsamaktadır.

Bitkisel kökenli birçok psikoaktif madde binlerce yıldır kullanılıyor olsa da (koka yaprağı, esrar (marihuana), afyon (haşhaş), peyote kaktüsü) cezai yaptırımların uygulanması 20. yüzyılda başlamıştır. Şu anda suistimal edilen maddelerin birçoğu bir zamanlar sadece satılmakla kalmıyor, aynı zamanda gıda ve ilaç endüstrileri tarafından faydalı maddeler olarak tanıtılıyorlardı. Günümüzde suistimal edilen diamorfin, kokain ve amfetamin gibi farmasötik ürünlerin suistimallerinden kaynaklı yasal kısıtlamaların artması yasa dışı bir pazarın gelişmesine sebep olmuştur.

“Kötüye kullanım” terimi, yasal ve/veya yasa dışı maddelerin amaçlanan dışında başka bir amaç için kullanılması olarak tanımlanmaktadır. Maddenin asıl kullanım amacı tedavi etmek iken, bazı kişiler tarafından bu maddelerin yarattığı etki nedeniyle maddeleri tedavi dışı amaçlarla kullanılmaktadırlar. Kötüye kullanım tanımı, kazara veya kasıtlı olarak aşırı doza yol açabilecek (örn. parasetamol ve aspirin) veya araç kazalarına katkıda bulunabilecek (örn. antihistaminikler) veya spor müsabakaları tarafından yasaklanmış (örn. diüretikler) kötüye kullanılacak farmasötik ürünleri hariç tutmaktadır. Ayrıca alkol, tütün ve kafein gibi besin değeri olan veya olmayan gıda maddeleri veya kullanımı birçok ülkede sosyal olarak kabul edilebilir görülen ilaçlar da kapsam dışı bırakılmıştır. Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO) göre, kontrole tabi yasa dışı maddeler 'kötüye kullanım' teriminden ziyade '**suistimal edilen**' terimini kullanmayı tercih etmektedir ².

Günümüzde, madde kullanımının büyük bir kısmını yasa dışı maddeler oluşturmaktadır. Suistimal edilen maddelerin çoğu, MSS uyarıcıları, narkotik analjezikler, halüsinojenler ve hipnotikler gibi birkaç farmakolojik gruba girmektedir. En yaygın psikoaktif maddeler hala bitkisel kaynaklı veya yarı sentetik maddelerdir (örneğin esrar, kokain ve diamorfin), ancak Birleşmiş Milletler (BM) Uyuşturucu ve Suç Ofisi'nin (UNODC) görüşü, sentetik uyuşturucuların (örneğin amfetamin, metamfetamin, MDMA ve ilgili tasarım maddeler) gelecekte daha önemli bir sosyal sorun oluşturacağı yönündedir.

2.2. Psikoaktif Maddelerin Sınıflandırılması ve Tarihçesi

2.2.1. Esrar

Esrar, kenevir bitkisinden elde edilen maddenin halk arasında yasa dışı kullanımının adı olup, Amerika Birleşik Devleti (ABD)'nde marihuana ismi ile bilinir. Dünyanın her yerinde yetiştirilebilen *Cannabis sativa* L. tek yıllık bir bitkidir ve boyu 1 ila 5 m yüksekliğine³ ulaşabilmektedir (Şekil 1). Tropikal iklim ortamlarında kolayca yetişebilir, ancak ılıman iklimlerde yıl boyunca tedarik sağlamak ve iyi çiçeklenmesini sağlamak için genellikle iç mekanlarda yetiştirilir. Kenevir lifi ve yağı üretimi için ekildiğinde, sapları kalındır ve bitkinin tepesine yakın yerleri dışında yapraksızdır. Ticari kenevir üretimi için yetiştirilen çeşitleri kannabinoidler bakımından düşüktür. Bitkinin reçinesi esas olarak çiçeklenme bölgesinde, yapraklarında ve gövdesinde, özellikle de bitkinin tepesinde oluşur. En fazla reçine miktarı çiçekli kısımda bulunur. Çiçeklenme zamanına kadar erkek ve dişi bitkiler neredeyse eşit miktarda reçine üretir, ancak polenlerini döktükten sonra erkek bitkiler kısa sürede ölür. Dişi bitkiler ise yasa dışı kenevir üretimi için kullanılır⁴.



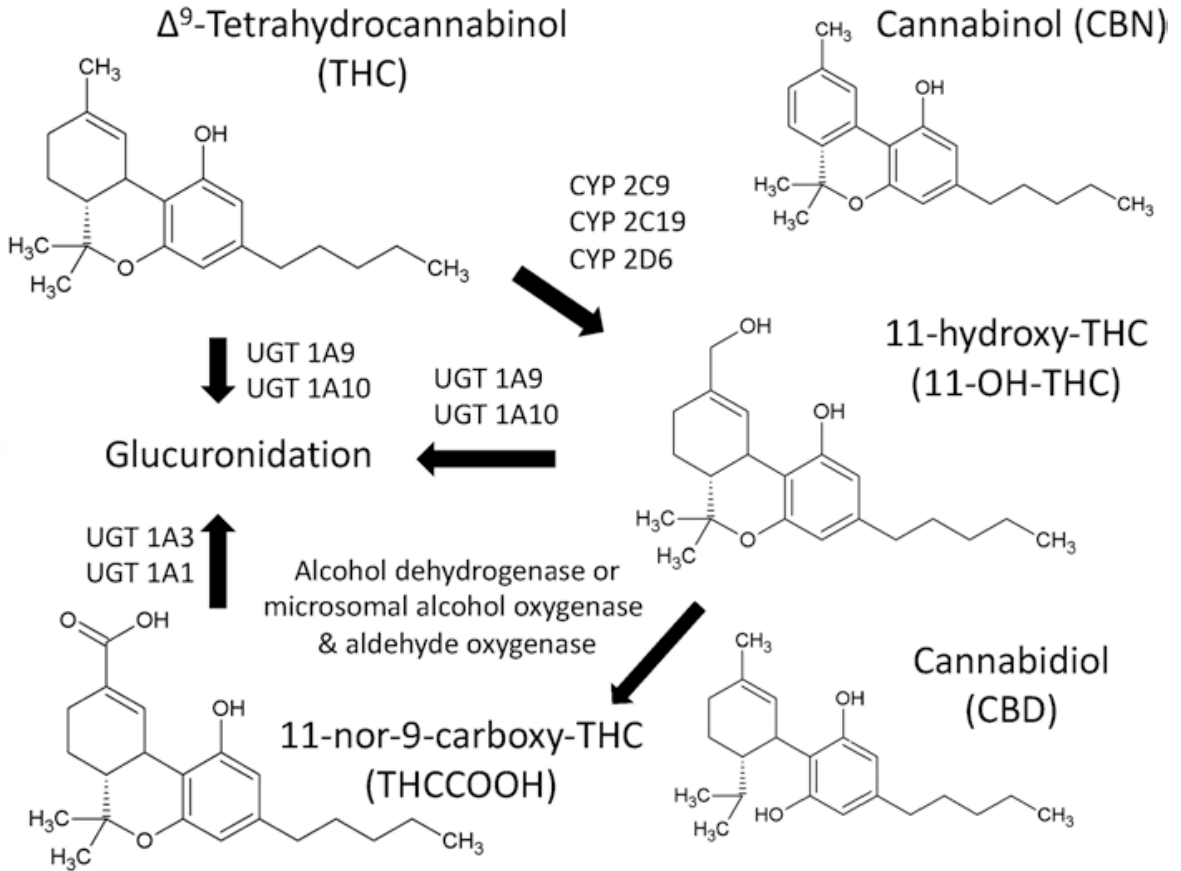
Şekil 1. Cannabis Sativa L. bitkisinin görüntüsü

Esrar (marihuana), 4000 yılı aşkın süredir öforik etkileri için kullanılan bitkidir. Ruh halini değiştiren özelliklerinden dolayı bağımlılık yaratma ve geri dönüşümlü psikolojik bozulma ile karakterizedir. Uzun süre kullanımdan sonra esrara karşı tolerans gelişebilir ve kronik madde kullanımının kesilmesinden sonra bir yoksunluk sendromu yaşanabilir. Düşük dozlarda depresan ve uyarıcı etkilerin bir karışımı görülebilir ve yüksek dozlarda MSS depresanıdır. Kannabinoidler diğer psikoaktif ilaçlarla ortak etkilere sahip olmakla birlikte, farmakolojik ilaç sınıfından ayıran farklı bir etki modeline de sahiptir. Kannabinoid farmakolojisinde son 30 yılda kannabisin terapötik etkilerine olan ilgi artmıştır. Endojen kannabinoid sistemindeki anormallikler birçok hastalığın patolojisinde önemli rol oynadığından ve klinik ihtiyaçları olan hastalar için yeni etki mekanizmaları sunduğundan, kannabinoid farmakoterapileri için büyük bir potansiyei vardır ^{5,6}.

Kenevirdeki ana psikoaktif madde $\Delta 9$ -tetrahidrokannabinoldür ($\Delta 9$ -THC). Kannabinol (CBN) ve kannabidiol (CBD) diğer ana bileşenler arasındadır. Kannabinol, $\Delta 9$ -THC'nin başlıca parçalanma ürünüdür ve kannabinol $\Delta 9$ -THC'nin öncüsüdür. Esrardaki aktif bileşenlerle etkileşim spesifik kannabinoid reseptörleri (beyin, akciğer ve böbrekte CB1 reseptörleri ve bağışıklık sistemi ile hematopoetik hücrelerde CB2 reseptörleri) aracılığıyla gerçekleşir. Bu reseptörler G-proteinine bağlı reseptörlerin üyeleridir. THC'nin reseptöre bağlanması adenilat siklaz inhibisyonu, kalsiyum kanalı inhibisyonu ve potasyum kanalı

aktivasyonu ile sonuçlanır. Esrar kullanımı başlangıçta bir öfori hissi ve artan duysal farkındalık ile zamanın, sesin ve rengin bozulmasına neden olur ve bunu bir rahatlama hissi izler ^{7,8}. Kannabis ve kannabinoidler, anksiyolitik, analjezik, sedatif ve halüsinojen özelliklere sahiptir; aynı zamanda iştahı artırır ve çeşitli psikolojik ile sistemik etkiler gösterirler. Bu etkilerin derecesi, kullanılan doz, uygulama yöntemi, kullanıcının önceki kannabis deneyimleri, eş zamanlı alınan diğer maddeler, ruh hali ve sosyal çevre gibi faktörlere göre değişiklik gösterebilir ⁹⁻¹¹. Kannabisin en yaygın kullanım sebebi, öforik ve keyif verici etkisidir. Ancak, uzun süreli esrar kullanımında algısal ve motor becerilerde, dikkat, sayısal ve sözel yeteneklerde, öğrenme ve hafızada bozulmalar olduğu gözlemlenmiştir ¹².

Δ^9 -THC, bitkinin çiçekli veya meyveli üst kısımlarında, yapraklarında ve reçinesinde bulunur. Bitkinin çeşitli kısımları kimyasal bileşimleri bakımından farklılık gösterir. Dişi kenevir bitkilerinin döllenenmemiş çiçekli tepelerinden üretilen çekirdeksiz ve daha güçlü bir kenevir formu olan Sinsemilla ilk olarak 1977'de ortaya çıkmıştır ve genellikle Amerika Birleşik Devletleri'nde üretilmektedir ⁷. Şekil 2'de THC'nin yapısı, aktif ve inaktif metabolitleri, metabolizmasından sorumlu enzimler ve minör kannabinoidler kannabinol (CBN) ve kannabidiol (CBD) gösterilmektedir ⁴.



Şekil 2. Esrarın ana psikoaktif bileşeni olan Δ^9 - tetrahidrokanabinol (THC), eşdeğer metaboliti 11-hidroksi-THC (11-OH-THC) ve birincil inaktif metaboliti olan 11-nor-9-karboksi-THC (THCCOOH) için başlıca metabolik yollar. Ayrıca minör kenevir bitkisi kannabinoidlerini, kannabinol (CBN) ve kannabidiol (CBD).

Kenevir, 109'dan fazla kannabinoid, azotlu bileşikler, amino asitler, hidrokarbonlar, şekerler, terpenler ve basit ve yağ asitleri dahil olmak üzere 500'den fazla farklı kimyasal içerir. Sigara içimi sırasında maddenin pirolizi, esrarın bilinen farmakolojik ve toksikolojik özelliklerine katkıda bulunanlar da dahil olmak üzere 2000'den fazla bileşik ortaya çıkmaktadır. CBD, THC dışında Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) onaylı bir kannabinoid farmakoterapi haline gelen ilk kannabinoiddir ³.

Esrar kullanımı ve esrar satışına yönelik federal kısıtlama ilk olarak 1937 yılında Marihuana Vergi Yasası'nın kabul edilmesiyle gerçekleşmiştir¹³. 1937'deki yasanın ardından, esrar 1942'de Birleşik Devletler Farmakopesi'nden çıkarılmış, 1951 ve 1956'da sırasıyla Boggs ve Narkotik Kontrol Yasaları'nın yürürlüğe girmesiyle bulundurmaya yönelik yasal cezalar artmış ve 1970 tarihli Kontrollü Maddeler Yasası ile federal yasalar kapsamında

yasaklanmıştır¹⁴. Suç haline gelmenin ötesinde, bu yasama eylemleri akademik amaçlar için esrar tedarikini kısıtlayarak araştırmalar üzerinde de sınırlamalar yaratılmasına katkıda bulunmuştur. Türkiye’de yürürlüğe giren 1926 tarihli Türk Ceza Kanunu (TCK) kapsamında, kenevir kontrollü maddeler arasında yer almaktadır. Kannabisin tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de ekimi, satışı ve bulundurulması “Uyuşturucu Maddelere Dair 1961 Tek Sözleşmesi” ile yasaklı madde haline gelmiştir¹⁵.

Özetle, esrar dünyada en yaygın kötüye kullanılan yasa dışı maddedir. Madde etkisi altında araç kullanma vakalarında en yüksek orana sahiptir. İşyeri madde testlerinde diğer tüm suistimal edilen maddelerden daha fazla pozitif sonucun kaynağıdır. Adli toksikologların esrarın bilişsel, fizyolojik, biyokimyasal ve davranışsal etkilerinin yanı sıra maddenin ve metabolitlerinin biyolojik sıvılar ve dokulardaki dağılımını anlamaları toplum sağlığı ve güvenliği için oldukça önemlidir⁴.

2.2.2. Amfetamin Tipi Stimülanlar

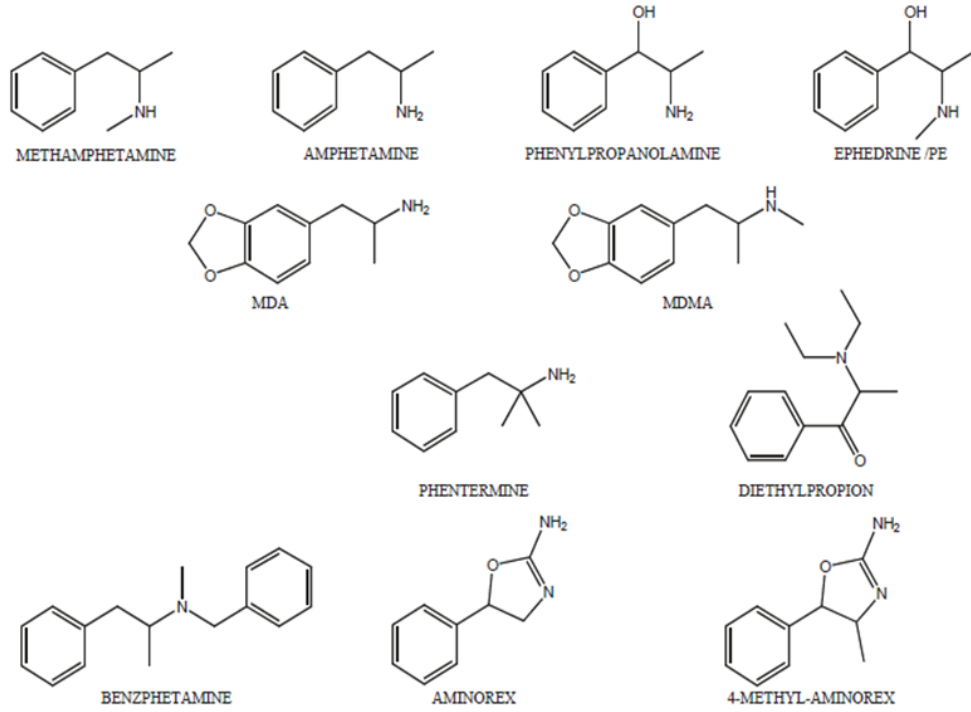
Amfetaminler tipi stimülanlar (ATS), endojen nörotransmitterlerin etkilerini taklit ederek sempatik sinir sistemini uyaran maddelerdir. Amfetamin ve metamfetamin terapötik olarak narkolepsi, dikkat eksikliği bozukluğu ve obezite tedavisinde kullanılmaktadır. Terapötik olarak kullanılabilen sempatomimetik aminler arasında fentermin, efedrin ve psödoefedrin de bulunmaktadır. Fentermin iştah kesici olarak, efedrin resüsitasyon sırasında vazopresör olarak, psödoefedrin ise burun/sinüs dekonjestanı olarak kullanılır. Amfetamin ve metamfetaminin yanı sıra, metilendioksimetamfetamin (MDMA), metilendioksiamfetamin (MDA) ve sentetik katinonlar (banyo tuzları) gibi analoglar da yasa dışı madde pazarında bulunmaktadır. Bu analoglar, amfetaminler ve sempatomimetik aminlerden daha fazla halüsinojenik aktiviteye sahiptir. Bu bileşik sınıfı ile diğer ilaç sınıfları arasındaki bir fark, bu ilaçların çoğunun farmakolojik aktivitede farklılıklara yol açan kiral merkezlerle sahip olmasıdır. Bu nedenle, enantiyomerlerin kiral ayrımı bu bileşiklerin analizinde oldukça önemlidir⁴.

Amfetamin ilk olarak 1877 yılında sentezlenmiş, 1930'larda narkolepsi ve depresyon tedavisi için MSS uyarıcısı olarak klinikte kullanılmıştır. Kötüye kullanım potansiyelleri ise hızla artmıştır. Özellikle amfetaminlerin yorgunluğu hafifletme, zihinsel ve fiziksel

performansı artırma, ruh halini yükseltme, güven artırma ve öfori üretme yeteneği sayesinde kötüye kullanımlarına ve istismarlarına yol açmıştır. Amfetamin kullanımı, İkinci Dünya Savaşı sırasında özellikle askerler, fabrika işçileri ve Japonya'daki savaş esirleri tarafından bu özelliklerinden dolayı yaygın olarak kullanılmıştır. İkinci Dünya Savaşı'ndan sonra, Japon pazarındaki fazlalık reçetesiz satışlara izin vermiş ve en yoğun kullanım 1954 yılında gerçekleşmiştir. 1960'larda metamfetamin kullanımı Amerika Birleşik Devletleri'nde sosyal bir sorun haline gelmiştir ¹⁶.

Metamfetamin, ABD'de en sık kullanılan, yasa dışı olarak üretilen kontrollü maddelerden biridir. D-amfetaminin aksine, d-metamfetaminin sentezlenmesi daha kolaydır. Üretim ve bulunabilirlik kolaylığı nedeniyle metamfetamin, birçok psikoaktif madde kullanıcısı arasında tercih edilen sempatomimetik amin haline gelmiştir. Yasa dışı metamfetamin, "speed", "crank", "go", "crystal" veya kısaca "meth" olarak bilinen, suda çözünebilen, beyaz, kristal toz formunda (metamfetamin hidroklorür) bir maddedir. Bu bileşik dimetil sülfon, şekerler veya daha ucuz uyarıcılar (örneğin kafein) gibi çeşitli maddelerle karıştırılır. Bu formdaki metamfetamin intravenöz enjeksiyon, oral tüketim, sigara veya nadiren insüflasyon şeklinde kullanılabilir. Ayrıca, "buz" adı verilen bir metamfetamin hidroklorür formu da mevcuttur. "Buz" terimi Uzak Doğu kökenlidir ve efedrin indirgeme yöntemiyle üretilen metamfetamin hidroklorür kristallerini ifade eder. Buzun popüleritesi, maddenin akciğerlerden hızlı emiliminden kaynaklanan öforinin ani klinik etkilerinden kaynaklanmaktadır ¹⁷.

Amfetamin/metamfetamin sınıfındaki "tasarımcı" bileşikler grubundan olan 3,4-metilendioksimetamfetamin (MDMA; "Ecstasy"; "Adam"; "XTC") ve onun N-demetil metaboliti olan 3,4-metilendioksimetamfetamin (MDA) en eski psikoaktif maddelerinden ikisidir (Şekil 3). MDMA bir metamfetamin türevidir; MDA ise bir amfetamin türevidir. MDA, MDMA'nın bir metabolitidir. Hem MDMA hem de MDA aynı zamanda kötüye kullanılan maddelerdendir.



Şekil 3. Amfetamin Tipi Stimülanların kimyasal yapıları

Amfetamin ve metamfetamin aynı farmakokinetik özelliklere sahiptirler. Metamfetamin yüksek oranda lipidde çözünür ve yaklaşık %67 biyoyararlanımı ve 3-7 L/kg dağılım hacmi ile ağızdan iyi emilir. Metamfetamin, normal koşullar altında, 24 saatlik bir süre içinde bir dozun %45'ine kadar idrarla büyük ölçüde değişmemiş ana ilaç olarak atılır. Amfetaminler aromatik hidroksilasyon yoluyla karaciğerde metabolize edilirler. Vücutta biriken hidroksillenmiş metabolitler amfetamin psikozunun gelişiminde rol oynamaktadır. Sempatomimetik aminlerin eliminasyonu yüksek oranda idrar pH'sına bağlıdır. İdrarın pH <5,6 olacak şekilde asitlendirilmesi plazma yarılanma ömrünü 11-12 saatten 7-8 saate kadar düşürmektedir ⁴.

Doğal olarak oluşan bazı alkaloidler de eğlence amaçlı (rekreasyonel) kullanılabilirler. Örneğin, *Catha edulis* (Celastraceae familyası) Doğu Afrika ve Arap Yarımadası'nın belirli bölgelerinde yetişen bir bitkidir. Bitkinin yaprakları bu bölgelerdeki insanlar tarafından çiğnenir ve Orta Çağ'a kadar uzanan köklü kültürel ve dini geleneklere sahiptir. "Khat" olarak da bilinen bu ürünün kullanımı, ABD'de alkol gibi sosyal kabul görmektedir. Yüzlerce yıldır kullanılmasına rağmen, khatın psikoaktif bileşenlerinin aydınlatılması yirminci yüzyılın

ortalarına kadar gerçekleşmemiştir. Wolfes 1930'da d-norpseudoefedrin [(+)-threo-2-amino-1-phenylpropanol] veya cathine'i tanımlamıştır. Ancak katin, khat kullanımında gözlenen merkezi sinir sistemi uyarımının boyutunu açıklamadığı için araştırmalar devam etmiştir. 1975 yılında l(s)-(-) aminopropiophenone veya cathinone tanımlanmıştır. Üçüncü bir fenetilamin olan norefedrin de tanımlanmıştır. Katinon bitki materyalinde oldukça kararsızdır. Katinon bozunmaya başladığında, bozunma ürünleri katin ve norefedrindir. Taze bitki, kurutulmuş bitki materyalinden 100 kat daha yüksek dozda katinon içerebilir. Bu da istenen etkilerin elde edilmesi için çiğneme amacıyla neden sadece taze bitkilerin tercih edildiğini açıklamaktadır¹⁸.

Sentetik katinonlar veya tasarımcı katinonlar olarak da bilinen katinon analoglarının kullanımı 2009 yılından bu yana önemli ölçüde artmıştır. Bunlar "head shop"lardan ve internetten temin edilebilmektedir. Genellikle banyo tuzları, leke çıkarıcılar, bitkisel gıdalar veya böcek kovucular gibi alternatif isimler altında satılmakta ve "insan tüketimi için değildir" şeklinde etiketlenmektedirler. Bu şekilde, üreticiler uyuşturucu madde yasalarını atlatmaya çalışmaktadır. Diğer suistimal ilaçlarda olduğu gibi, katinon analogları da çeşitli şekillerde uygulanmaktadır. Madde sigara kağıdına sarılıp içilebilir. Ayrıca burundan çekilebilir, tütürülebilir ya da damar içine veya kas içine enjekte edilebilir¹⁹.

2.2.3. Kokain

Kokain, esas olarak Güney Amerika And Dağları'nda yetişen *Erythroxylum Coca* (Şekil 4) bitkisinde bulunan bir alkaloiddir. Bitkinin yetiştirilmesinde yüksek rakımlar (6000 feet'e kadar) tercih edilmektedir çünkü daha düşük rakımlarda (1500 feet'in altında) çok daha hızlı büyümesi nedeniyle alkaloid içeriği önemli ölçüde azalmaktadır. Koka yaprakları ekimden yaklaşık 2 yıl sonra hasat edilebilmekte ve rakıma bağlı olarak, yapraklar yılda üç defaya kadar toplanabilmektedir²⁰.



Şekil 4. Erythroxylum Coca bitkisi görüntüsü.

Kokain 2000 yıldır kullanılan psikotropik bir maddedir. Peru'daki İnkalar, dini törenlerinde koka bitkisinin yapraklarını çiğneyerek kullanmaktaydı. Daha sonra, İspanyol fethi sırasında İspanyollar, Peru yerlilerinin bu bitkiden mahrum kaldıklarında madenlerdeki ağır işlerini yapamadıklarını gördüler. Günümüzde koka yaprakları, yüksek rakımdaki yaşamın zorluklarıyla başa çıkmak için And Dağları'nın yerli halkları tarafından hala kullanılmaktadır ²¹.

On dokuzuncu yüzyılın ortalarında, Albert Niemann koka bitkisinden kokaini başarıyla izole eden ilk kişidir. 1860'lardan yüzyılın başına kadar kokain, "sihirli" özelliklere sahip olduğu iddia edilen çeşitli iksir ve toniklerde kullanılmıştır. Vin Mariani ve John Pemberton tarafından geliştirilen, şarap ve kokain karışımı olan orijinal Coca-Cola içeceği pazara sunulmuştur. İtalyan Doktor Paolo Mantegazza kokainin tıbbi kullanımına ilgi duyan ilk kişidir. 1870'lerde kokainin morfin bağımlılığını tedavi etmek için potansiyel kullanımı hakkında birkaç makale yazılmıştır, ancak Sigmund Freud 1884'teki ünlü "Über Coca" adlı incelemesinde ilacı popüler hale getirmiştir²². 1884 yılında Carl Koller, kokaini oftalmolojik cerrahide topikal anestezi olarak kullanan ilk doktor olmuştur. Halk arasında kokainin açları doyuran, yorgunlara güç veren ve insanlara talihsizliklerini unutturarak mucizevi bir ilaç olduğu söylenerek popüleritesi giderek artmıştır²³.

Kokain lokal anestezi, damar daraltıcı ve güçlü bir psikostimülandır. Maddenin kötüye kullanımına yol açan da psikostimülan etkisidir. Kokain MSS'deki dopamin geri alım taşıyıcısına bağlanarak sinapslardaki dopamin ve norepinefrin konsantrasyonunu artırır. Bunun sonucunda öfori, sersemlik hissi, yüksek farkındalık ve cinsel istekte artış meydana gelmektedir ²⁴.

Kokainin kötüye kullanımı 1914 yılında bir sorun olarak görülmeye başlandığında, uyuşturucu Harrison Narkotik Yasası kapsamında narkotik olarak etiketlendi ve reçetesiz satışları durduruldu. 1970 yılında, Kontrollü Maddeler Yasası kapsamında kokain, bazı tıbbi değeri olan ancak kötüye kullanım potansiyeli yüksek bir ilaç olarak tanımlandı ⁴. Bazuka, blow, coke, crack, dust, flake, gold dust, happy dust, lady, nose, nose candy, rock, snow, speedball (eroinle karıştırılıp enjekte edildiğinde), stardust, tick (fensiklidin ile kullanıldığında), toot ve white gibi çok sayıda sokak ismi bulunmaktadır. Kokain sokaklarda; hidroklorür tuzu ve crack şeklinde satılmaktadır (Şekil 5).



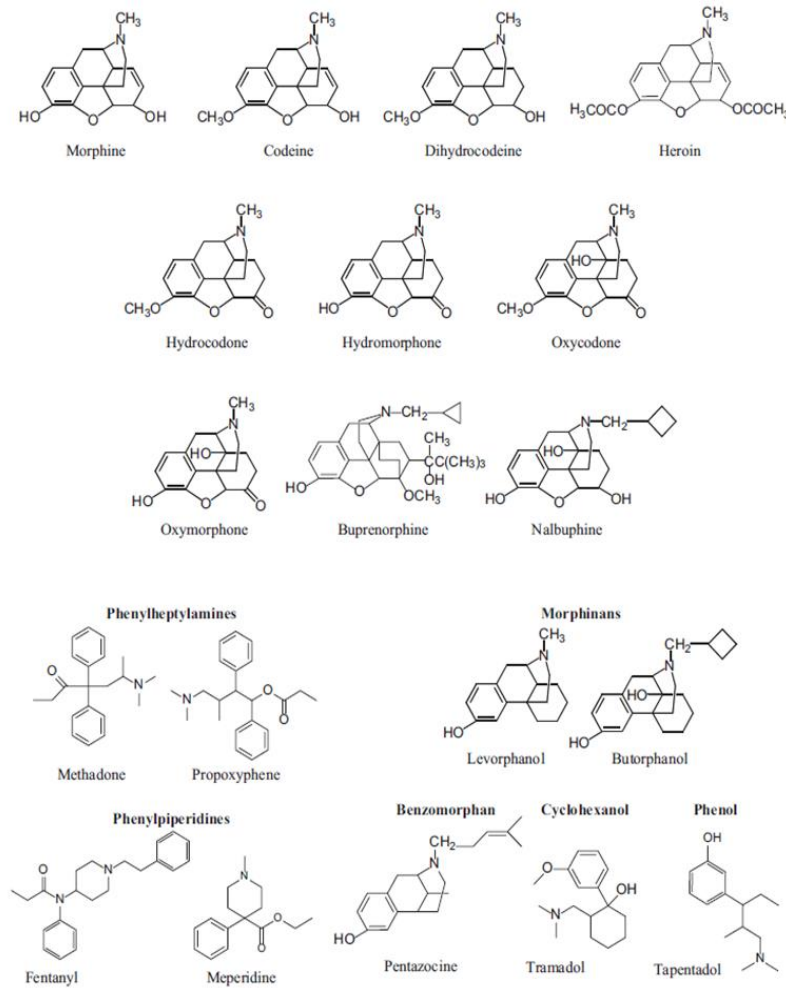
Şekil 5. Kokainin iki farklı formu. A: Toz kokain, B: Crack kokain

2.2.4. Opioidler

2000 yılı aşkın süredir kullanılan opiatlar, haşhaş bitkisi olan *Papaver somniferum*'dan elde edilen ve doğal olarak oluşan alkaloid analjeziklerdir. Olgunlaşmamış tohumun kesilmesiyle elde edilen sütlü eksudat, morfin ve kodein de dahil olmak üzere tebain, noskabin, papaverin gibi yirmi civarında alkaloid içermektedir ²⁵. Opioid terimi, afyondan

hazırlanan doğal ve yarı sentetik alkaloidlerin yanı sıra, yapılarından ziyade farmakolojik etkileri morfininkileri taklit eden sentetikleri tanımlamak için de kullanılır.

Opioid kullanımı küresel ölçekte dramatik bir şekilde artmaktadır. Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezine (CDC) göre, ABD'nin bir opioid salgınının ortasında olduğunu belirtmektedir. Opioid kaynaklı ölümlerdeki artış üç farklı dalgaya bağlanmıştır. İlk dalga, artan reçete yazma uygulamaları ve bol miktarda terapötik opioid kullanımı nedeniyle 1990'larda başlamıştır. Eroin kaynaklı ölümlerdeki asıl artış 2010 yılında ikinci dalganın başlangıcını oluşturmuştur. Bunu 2013 yılında ölümcül aşırı dozların büyük ölçüde fentanil analogları (fentaloglar) da dahil olmak üzere yasa dışı olarak üretilen sentetik opioidlerin akımına bağlandığı üçüncü dalga takip etmiştir. Daha yakın zamanlarda hem opioid hem de opioid olmayan etkilere sahip atipik opioidler de ortaya çıkmıştır (mitraginin)⁴.



Şekil 6. Opioid analjeziklerin kimyasal yapıları.

2.2.4.1. Morfin

Afyonun başlıca alkaloidi olan morfin, adını eski Yunan rüya tanrısı olan Morpheus'tan almaktadır. İlk olarak 1806 yılında izole edilen morfin ²⁶, daha sonra birçok yarı sentetik opioid analjeziğin geliştirilmesinde birincil yapı taşı oluşturmuştur (Şekil 6). En ucuz ve en güçlü narkotik analjezik olmasından dolayı en çok kullanılan alkaloiddir.

Morfin, parenteral ve enteral yolla uygulanabilir. Parenteral uygulama sonrası etkilerini hızla gösterirken, enteral uygulamayı takiben ilk geçiş metabolizması ilacın etkinliğini önemli ölçüde azaltır ve başta böbrekler, karaciğer, akciğerler ve dalak olmak üzere geniş bir alana yayılır. Başlıca metabolik yolları, 3- ve 6-glukuronidasyon ve sülfatlama, N- ve O-demetilasyon ve N-oksit oluşumudur. Hem morfin-3-glukuronid (M3G) hem de normorfin farmakolojik olarak aktif metabolitlerdir. Morfin-6-glukuronid (M6G)'nin analjezik gücü morfinin yaklaşık iki katı olup, solunum depresyonu potansiyeli daha azdır ve bu nedenle kronik ağrı tedavisinde analjezik olarak tek başına etkili olabilir. Morfinin glukuronidlenmiş metabolitinin artan polaritesine rağmen kan-beyin bariyerini geçtiği gösterilmiştir. Glukuronidlenmiş morfinin beklenmedik şekilde yüksek lipofilitesinin teorik bir açıklaması, polar parçaların yüzey alanını en aza indirmek için molekül içi katlanmanın gerçekleşmesidir. Bir diğer konu da opioid reseptörlerine çok düşük bir afinitesi olan ana metabolit olan morfin-3-glukuronidin morfinin analjezik etkisini antagonize edip edemeyeceği ve dolayısıyla tolerans gelişiminde mekanik bir rolü olup olmadığıdır. Parenteral uygulamayı takiben, morfinin %90 kadarı idrarla atılır ve %10'u safra yoluyla elimine edilir. Yaklaşık %10'u serbest morfin olarak atılır, ancak bu fraksiyon idrar pH'sının düşmesiyle artar. Serbest veya konjuge morfin varlığı kodein veya eroïn kullanımının göstergesi olabilir, çünkü bu iki ilacın da başlıca aktif metaboliti morfindir ²⁷.

2.2.4.2. Kodein

Morfinin metilasyonu ile elde edilen *yarı sentetik* bir agonisttir (Şekil 6). Kodein, reçetesiz satılan bazı ilaçlar da dahil olmak üzere bir dizi özel formülasyona dahil edilen orta derece etkili bir analjeziktir. Genellikle asetaminofen veya aspirin gibi opioid olmayan analjeziklerle birlikte kullanılır. Piyasada bulunan kodein ürünlerinden yasa dışı morfin ve eroïn sentezi rapor edilmiştir. Tipik bir dozun ardından, ilacın yaklaşık %20'si 24 saat içinde

değişmemiş kodein olarak idrarla atılır. N- ve O-demetilasyonu takiben glukuronidasyon ve sülfasyon başlıca metabolik yollarıdır. Uygulanan dozun yaklaşık %10'u morfine metabolize olur ve analjezik etki oluşturur. Daha ileri metabolizmada ise morfin kendisinden daha güçlü aktif metaboliti olan M6G'ye dönüşür. Atılım sırasında başlangıçta kodein konjugatları baskınken, 20-40 saatlik bir sürede morfin konjugatları baskın hale gelmektedir ²⁸.

2.2.4.3. Hidrokodon

Hidrokodon, kodeinden türetilen *yarı sentetik* bir analjezik agonisttir (Şekil 6). Artan toksisitesi ve bağımlılık sorumluluğuna rağmen öksürük şurubunda yaygın olarak kullanılmaktadır. İlacın yaklaşık %26'sı 72 saat içinde, %12'si değişmemiş ilaç olarak idrarla atılır. Temel olarak hidromorfona demetilasyon ve 6-keto grubunun indirgenmesi ile metabolize olan konjuge olmayan metabolitlerin farmakolojik olarak aktif olduğu ve bu nedenle ilacın analjezik etkisine katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Hidromorfol ve hidrokodol ilacın stereoizomerleri olarak mevcut olabilir ²⁹.

2.2.4.4. Hidromorfon

Hidrokodonun bir metaboliti olan hidromorfon, morfinin hidrojenlenmiş bir keton türevidir ve morfine göre daha yüksek etki gücü göstermektedir (Şekil 6). Bu *yarı sentetik* agonist, oral uygulamayı takiben hızlı bir ilk geçiş metabolizmasına uğrar ve metabolize olmamış ilacın yaklaşık %6'sı 24 saat sonra idrarla atılır. Birincil metabolik yolun, 6-keto grubunun indirgenmesi ve 6 α - ve 6 β -hidroksi türevlerinin oluşumu yoluyla aktif metabolitler ürettiğine inanılmaktadır ²⁹.

2.2.4.5. Eroin

Yarı sentetik bir türev olan eroin, ilk olarak 1874 yılında morfinden sentezlenmiş ve 1898 yılında farmasötik bir preparat²⁵ olarak kullanıma sunulmuştur (Şekil 6). Eroin olarak da bilinen diamorfin, morfinin asetilasyonu yoluyla elde edilir. İki asetil grubuna sahip olan eroin, kan-beyin bariyerini daha iyi geçer ve morfinin iki ila üç katı analjezik etkiye sahiptir. Eroinin vücut sıvılarında tespit edilebilirliği genellikle çok nadirdir. Yarılanma ömrü birkaç dakikadır ve hızla deasetilasyona uğrayarak morfinden yaklaşık dört kat daha güçlü olan 6-

asetilmorfine (6-AM) dönüşür. Eroin diğer opioidlerden farklı olarak opioid reseptörlerine çok az ya da hiç afinitesi yoktur. Bu nedenle, maddenin analjezik etkileri, yarılanma ömrü 0,6 saat olan 6-AM'nin kombine etkisine ve ardından morfine biyotransformasyonuna bağlanmaktadır. Tepe plazma konsantrasyonlarına ilaç uygulamasından sonraki birkaç dakika içinde ulaşılır ve etkilerinin uzun sürmesi aktif metabolitlerinden kaynaklıdır.

6-AM'nin varlığı eroin kullanımının kesin kanıtıdır, çünkü 6-AM morfin veya kodein metabolizmasının bir ürünü değildir. İdrarda sadece kullanımdan yaklaşık 8 saat sonrasına kadar tespit edilebilir. İlacın yaklaşık %80'i 24 saat içinde, çoğunlukla morfin-3-glukuronid olarak idrarla atılır; yaklaşık %0,1'i serbest ilaç olarak atılır.

Eroin, yasadışı piyasadaki en yaygın kullanılan opioidlerden biridir. Yasa dışı laboratuvarlarda üretilen eroin, diğerlerinin yanı sıra asetilmorfin, asetilkodein, kodein, papaverin ve morfin dahil olmak üzere çeşitli afyon alkaloidleri ve sentetik yapay maddeler içerebilir. Sokakta şeker, kabartma tozu, un veya diğer psikoaktif maddeler gibi çeşitli yaygın seyrelticilerle kullanılmaktadır. Sokakta Eyc (H), beyaz, toz, peynir gibi farklı adlarla satılmaktadır. Eroin uygulamasını takiben ölüm tipik olarak solunum depresyonundan kaynaklanmaktadır ²⁵.

2.2.4.6. Meperidin

Morfin benzeri bir yapısı olmayan ilk **sentetik** opioid meperidindir (1939'da tesadüfen keşfedilmiş). Morfinden daha az güçlü ve daha kısa etki süresine sahiptir (Şekil 6). Oral uygulamayı takiben, meperidin kolayca emilir ve dokulara dağılır. Toplam ilacın yaklaşık %7'si değişmeden idrarla atılır, ancak bu oran idrar pH'sının düşmesiyle ve oral kontraseptif kullanan kadınlarda artar. Ana ilacın yaklaşık yarısı kadar güçlü olan normeperidin, meperidinin kendisinden birkaç kat daha toksiktir ve daha uzun bir yarılanma ömrüne sahiptir ²⁹.

2.2.4.7. Fentanil ve Türevleri

Fentanil son derece hızlı etkili, güçlü bir **sentetik** agonisttir ve ilk olarak 1963 yılında anestezik bir takviye olarak piyasaya sürülmüştür (Şekil 6). Morfine göre analjezik gücü artmış olmasına rağmen, benzer tolerans ve fiziksel bağımlılığa sahiptir. Lipofilik olmaları

nedeniyle, fentanil ve türevleri kan-beyin bariyerini hızla geçer ve MSS üzerinde öforiye ve şiddetli solunum depresyonu sebep olur. Transdermal fentanil kronik ağrıyı azaltmak için kullanılır, ancak terapötik konsantrasyonlara 12-24 saat boyunca ulaşamayabilir. Enjekte edilebilir formülasyonlara ek olarak transmukozal pastiller, tabletler, ağız içi ve burun spreyleri de mevcuttur. Bu ilacın sağlık çalışanları arasında kötüye kullanımı, öforik etkileri ve bulunabilirliği nedeniyle uzun süredir devam eden bir endişe kaynağı olmuştur. Bununla birlikte, yasa dışı fentanil kullanımı artık farmasötik fentanil suistimalinden daha yaygındır.

Bazı fentanil analogları tıp ve veterinerlik uygulamalarında kullanılmaktadır. Kalp cerrahisinde analjezik ve anestezi olarak kullanılan *sufentanil*, fentanilden beş ila yedi kat daha güçlüdür. *Alfentanil* çok kısa etki süresine sahiptir ve fentanilden daha az etkilidir. Genellikle küçük ameliyatlar için kullanılmaktadır. Morfinden yaklaşık 200-300 kat daha güçlü bir analog olan *remifentanil* de cerrahi sonrası ağrıyı kontrol etmek için kullanılır. Diğer türevler arasında travma hastalarında kullanılan ve morfinden 6000 kat daha güçlü bir analog olan *lofentanil* ve veterinerlikte kullanılan, morfinden 3200 kat daha güçlü bir immobilize edici ajan olan *karfentanil* bulunmaktadır ⁴.

2.2.4.8. Metadon

Sentetik opioid olan metadon 1946'da sentezlenmiştir (Şekil 6). Oral etkinliği ve orta derecede uzun süreli etkileri nedeniyle büyük ölçüde opioid kullanım bozukluğu olan bireylerin detoksifikasyonu ve idamesi için kullanılan sentetik bir analjezik agonisttir. Metadon ayrıca ağrı yönetimi programlarında orta ila şiddetli ağrıyı tedavi etmek için kullanılır. Akut olarak uygulandığında analjezi süresi 3-6 saattir; ancak uzun süreli kullanım, metadonun farmakokinetik ve farmakodinamik profilini 24 saatlik bir doz aralığında ilaç ihtiyacını hafifletecek şekilde genişletebilir. Detoksifikasyon ve indüksiyon tedavisi sırasında opioid yoksunluk semptomlarının giderilmesi için oral yoldan uygulanabilir. İlk stabilizasyondan sonra, bağımlı hastaları korumak için tam tedavi dozu tipik olarak 80-120 mg/gündür. Metadonun akut toksisitesine rağmen, uzun süreli uygulamadan sonra (>21 gün) 200 mg/gün dozları tolere edilebilir.

Metadonun oral kullanımı sonrası emilimi hızla gerçekleşir. Kullanım sonrası dokularda, özellikle karaciğer, akciğerler ve böbreklerde yaygın olarak dağılır. Mono- ve di-

N-demetilasyonu takiben, inaktif metabolitleri olan 2-etiliden-1,5-dimetil- 3,3-difenilpirrolidin (EDDP) ve 2-etil- 5-metil-3,3-difenilpirrolini (EMDP)'ye dönüşür. Hidroksilasyon ve glukuronidasyon meydana gelir, ancak ilacın yaklaşık %75'i konjuge olmadan kalır. Metadon idame tedavisi gören bir hastanın idrarında ilacın %33 kadarı 24 saat içinde değişmeden atılabilir ²⁹.

2.2.4.9. Tramadol

Tramadol, kodeine benzer bir analjezik güce sahiptir, ancak solunum etkileri daha azdır. Aynı zamanda bir serotonin-norepinefrin geri alım inhibitörüdür (SNRI). Oral dozun yaklaşık %90'ı 3 gün sonra idrarla, %30'u ise değişmeden atılır. İlacın N- ve O-demetilasyonunu, glukuronik asit ve sülfat konjugasyonu takip eder. O-Desmetiltramadol, ana ilacın iki katı daha potent ve daha uzun bir yarılanma ömrüne sahip aktif bir metabolittir; ilacın toksisitesine katkıda bulunduğuna inanılmaktadır ⁴.

2.2.4.10. Buprenorfin

Buprenorfin, karışık agonist-antagonist özelliklere sahip bir tebain türevidir (Şekil 6). Yüksek reseptör afinitesi sayesinde morfin benzeri uzun süreli analjezi sağlar ve opioid bağımlılığının detoksifikasyonu ve idamesinde kullanılır. Uzun etki süresi, μ reseptörlerinden yavaş ayrışmasından kaynaklanmaktadır. Biyotransformasyon, farmakolojik olarak aktif metabolit norbuprenorfini oluşturmak için N-dealkilasyon yoluyla gerçekleşir ve daha sonra glukuronidlenir.

Buprenorfin esas olarak dışkı ile atılır, sadece küçük bir miktarı idrarla atılır ve genellikle kullanımdan sonraki 1-3 gün içinde tespit edilebilir. Buprenorfin, transmukozal ürünler, dil altı tabletler ve bukkal filmler dahil olmak üzere bir dizi formülasyonda mevcuttur. Opioid tedavi programlarındaki metadondan farklı olarak, buprenorfin reçete edilebilir. İlacın yasa dışı ve kötüye kullanımını azaltmak için nalokson içeren formülasyonlar da mevcuttur. Buprenorfin/nalokson dil altından alındığında, opioidin etkilerini baskılar ve yoksunluğunu azaltır ³⁰. Türkiye'de buprenorfin/nalokson kombinasyonlu preparat (Suboxone) opioid bağımlılarının tedavisinde kullanılmaktadır.

2.2.4.11. Yeni Sentetik Opioidler

Yeni sentetik opioid (NSO) terimi genellikle opioid reseptör aktivitesine sahip olan ve yakın zamanda yasa dışı madde pazarında ortaya çıkan maddeleri ifade eder. Buna fentaloglar ve diğer sentetik opioidler de dahildir. Bu maddeler genellikle psikoaktif madde preparatlarına, etkilerini arttırmak için, çoğu zaman kişinin bilgisi dışında dahil edilmektedir. Adli toksikoloji laboratuvarları, ilgili verileri toplamak ve sağlamak için kontrollü madde trendlerini takip etmelidir. Özellikle son yıllarda yeni psikoaktif maddelerin çoğalması nedeniyle operasyonel laboratuvarlar için bu yeni maddeler önemli bir zorluk teşkil etmektedir. Günümüzde NSO'lar dört kimyasal alt sınıfa ayrılmaktadır: fenilpiperidinler (fentaloglar), sikloheksilbenzamidler, asetamidler ve piperazinler ⁴.

2.2.5. Halüsinojenler

Halüsinojenler, gerçeklik algısını değiştiren psikoaktif maddelerdir. Bu maddeler yüksek dozlarda illüzyonlara, deliryuma, halüsinasyonlara, sanrılara, duyuşal girdilerde artan farkındalığa, bölünmüş bir benlik hissine (dissosiyasyon), ses algısının yoğunlaşmasına, sinesteziye, depersonalizasyon ve derealizasyona sebep olmaktadır ²⁴.

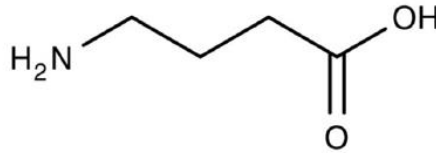
Halüsinojenlerin çoğu bitkisel alkaloidleridir ve 5-hidroksitriptamin 2A (5-HT_{2A}) reseptör agonistleri olarak işlev görürler ³¹. Fensiklidin (PCP), liserjik asit dietilamid (LSD), meskalin, psilosibin ve ketamin klasik halüsinojenik bileşiklerdir. Daha yakın zamanlarda, PCP, meskalin (2C ve NBOMe tipleri) ve ketamin analogları da dahil olmak üzere sentetik analoglar da yeni psikoaktif maddeler olarak yasa dışı madde pazarında ortaya çıkmıştır. PCP dissosiyatif bir anestezik olarak, ketamin ise başka bir anestezik olarak kullanılırken, halüsinojenik özellikleri nedeniyle kötüye kullanılmaktadırlar.

Belirli koşullar altında veya toksik dozlarda, çeşitli ilaç sınıfları da yanılsamalara, halüsinasyonlara veya sanrılara neden olabilmektedir. Bunlar arasında antikolinergikler, bromürler, opioid antagonistleri, kokain, kortikosteroidler, bazı uçucu çözücüler ve yeni psikoaktif maddeler bulunmaktadır. Halüsinojenlerin çoğu 5-HT_{2A} reseptör agonistidir ve bu da bilişsel değişiklikleri açıklamaktadır ³².

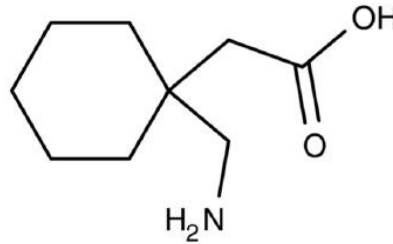
2.2.6. Gabapentinoidler

Gabapentinoidler sınıfından olan pregabalin ve gabapentin, epileptik ve ağrı bozukluklarının tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Pregabalin ayrıca yaygın anksiyete bozukluğu, diyabetik periferik nöropati, post-herpetik nevralji ve fibromiyalji için de kullanılmaktadır ³³. Gabapentinoidler yapısal olarak gama-aminobütirik aside (GABA) benzerler (Şekil 7); ancak GABA reseptörleri üzerinde etki göstermezler veya GABA sentezi veya metabolizması üzerinde etkileri yoktur. Voltaj kapılı kalsiyum kanallarının (VGCC) alfa-2-delta alt birimi için seçici ligandlardır ³⁴.

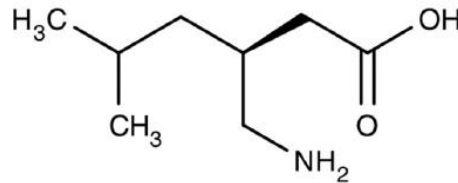
GABA



Gabapentin



Pregabalin



Şekil 7. GABA'nın yapısı: gabapentin ve pregabalin.

Gabapentinoidlerin, özellikle opioid kullanımı öyküsü olan bireylerde kötüye kullanım potansiyeli oldukça yüksektir ³⁵. Her iki gabapentinoidin de öfori, sakinlik ve rahatlama duygularını uyardığı ve diğer ilaçların psikoaktif etkilerini arttırdığı yapılan çalışmalarda bildirilmiştir ³⁶. Pregabalinin kötüye kullanım potansiyeli, farmakokinetik ve

farmakodinamik özellikleri nedeniyle gabapentine kıyasla daha yüksektir. Gabapentinoidler tek başına aşırı dozda solunum depresyonuna neden olma olasılığı düşük olsa da diğer MSS depresanlarıyla birlikte (özellikle alkol) kullanımları ölümcül olabilmektedir ³⁷. Gabapentinoidlerin kötüye kullanım sebepleri arasında, reçete ile temin edilebilir olması, hızlı etki göstermesi, düşük maliyetli olması ve endikasyon dışı kullanımının olması yer almaktadır ³⁵.

2.3. Ülkemizdeki Psikoaktif Maddeler ile İlgili Yasal Düzenlemeler

Tıbbi/bilimsel amaçlarla psikoaktif madde kullanımı, devletin gözetiminde kontrollü bir serbestliğe sahip olsa da bireysel ve toplumsal sağlık sorununun yanı sıra ciddi bir kamu güvenliği sorunu haline gelmiştir. Kara para aklama ve terörün finansmanı suçlarının büyük bölümünü oluşturan yasadışı madde sorunu, tıbbi ve kriminal bir salgına, gençleri içine alan, sürekli büyüyen bir sorundur. Bilimsel açıdan multidisipliner önleyici faaliyet, bu alanda işlenen suçların tespiti ve ilgili kişilere cezai yaptırım uygulanması kadar önemli ve gereklidir. Karşılaştırmalı hukukta yasadışı madde suçları hem parlamento hem de yargı gündemini meşgul eden en önemli suçlar arasında yer almaktadır ³⁸.

2.3.1. Uluslararası Anlaşmalar ve Sözleşmeler

Türkiye, küresel psikoaktif madde kontrol sisteminin temel direkleri olarak kabul edilen 1961 Tek Sözleşmesi, 1971 Psikotrop Maddeler Sözleşmesi, 1988 Uyuşturucu ve Psikotrop Maddelerin Yasadışı Ticaretine Karşı Birleşmiş Milletler (BM) Sözleşmesi ve 1961 Tek Sözleşmesini tadil eden 1972 Protokolü dahil olmak üzere yürürlükteki uluslararası uyuşturucu kontrol sözleşmelerine taraftır. Türkiye, bu sözleşmeler kapsamındaki sorumluluklarını etkin bir şekilde yerine getirmenin yanı sıra, başta BM olmak üzere diğer uluslararası kuruluşların himayesinde yürütülen proje ve faaliyetlere de donör olarak destek vermektedir ³⁹. Ülkemizde psikoaktif maddeleri tanımlamak, kullanımını kısıtlamak, ticaretini ve üretimini önlemek amacıyla birçok yasa çıkarılmıştır.

2.3.2. 2709 sayılı Türkiye Cumhuriyeti Anayasası

Türkiye Cumhuriyeti Anayasası'nın 58. Maddesi açıkça devleti, gençleri psikoaktif maddelerden korumakla yükümlü kılmaktadır. Ayrıca Anayasa'nın kişi hürriyeti ve güvenliğini düzenleyen 19. Maddesi, uyuşturucu madde bağımlıları hakkında kanuna uygun olarak tedavi, eğitim ve rehabilitasyon amacıyla kısıtlayıcı tedbirler uygulanabileceğini belirtmektedir.

2.3.3. Kanun ve Yönetmelikler

2.3.3.1. 2313 sayılı Uyuşturucu Maddelerin Murakabesi Hakkında Kanun

Bu kanun 24 Haziran 1933 tarihinde resmî gazetede yayımlanarak yürürlüğe girmiştir. Ülkemizde psikoaktif maddelerin kontrolüne ilişkin temel yasal metin 2313 sayılı kanundur. Bu kanunda "narkotik" terimi sadece yatıştırıcı etkisi olan maddeleri değil, aynı zamanda uyarıcıları, halüsinojenleri, tüm psikoaktif maddeleri, diğer bir deyişle tüm " psikoaktif maddeleri" ifade etmektedir. Yasanın 3. Maddesi esrara ayrılmış olup, esrar üretimi için hint keneviri (*Cannabis sativa*) ekimi, ithalatı, ihracatı ve satışını yasaklamaktadır. Madde 23, kenevir üretimi dışında kenevir ekiminin Tarım ve Orman Bakanlığı'nın iznine tabi olduğunu ve izinsiz kenevir ekiminin cezalandırılacağını belirtmektedir. Kanunun 19. Maddesi, yasadışı piyasada yeni olan ve bu nedenle bu kanunda belirtilemeyen, ancak bilimsel çalışmalarla zararlı olduğu gösterilen maddelerin Sağlık Bakanlığı tarafından Cumhurbaşkanlığı kararı ile ilan edileceğini belirtmektedir. Sentetik kannabinoidler ve sentetik katinonlar gibi yeni nesil sentetik maddeleri tanımlamak için kullanılan bir terim olan "yeni nesil psikoaktif maddeler" basta olmak üzere birçok madde, 2313 sayılı Kanunun 19. Maddesine göre "yasadışı maddeler" olarak sınıflandırılabilir. Bu durumda, söz konusu maddenin kullanımı, bulundurulması, taşınması, satışı, ithalatı ve ihracatı suç olarak tanımlanmaktadır. Kanunun diğer maddeleri, kontrol altındaki maddelerin ithalatı, ihracatı ve transit geçişini; ülkede perakende veya reçeteli satışını, kanuna aykırı olarak ele geçirilen maddelerle ilgili olarak yapılacak işlemleri; bir dizi cezai yaptırımı ve ihtiyati tedbiri; sorumlulukları ve yetkileri düzenleyen hükümler içermektedir ⁴⁰.

2.3.3.2. 3298 sayılı Uyuşturucu Maddelerle İlgili Kanun

3298 sayılı Kanun, haşhaş kapsülleri, ham afyon, tıbbi afyon, afyon alkaloidleri, morfin özelliği taşıyan tuzları, esterleri ve eterleri, koka yaprağı ve alkaloidleri, tuzları, esterleri ve eterlerini uyuşturucu madde olarak kabul etmektedir. 3298 sayılı Kanun ayrıca, daha sonra belirlenecek diğer doğal ve sentetik uyuşturucu maddelerin Sağlık Bakanlığı'nın önerisi üzerine Bakanlar Kurulu kararıyla kanun kapsamına alınabileceğini ve böylece kısıtlayıcı bir düzenlemeden kaçınılabileceğini öngörmektedir. "Haşhaş ekimi" suçu 3298 sayılı Kanun'un dördüncü maddesinde düzenlenmiştir. Bu maddeye göre, izinsiz haşhaş ekimi yapan kişi bir yıldan beş yıla kadar hapis ve adli para cezası ile cezalandırılır. İzin almakla birlikte, izinde belirtilen alandan daha geniş bir alanda veya izinde belirtilen yerden başka bir yerde haşhaş ekimi yapan kişi, altı aydan üç yıla kadar hapis ve adli para cezası ile cezalandırılır. İzinsiz ham afyon üretenler Türk Ceza Kanunu hükümlerine göre cezalandırılır ⁴¹.

2.3.3.3. 5237 sayılı Türk Ceza Kanunu

Psikoaktif madde suçlarına ilişkin temel ceza ve yaptırımlar 5237 sayılı Türk Ceza Kanunu'nun 188 ila 192. maddelerinde düzenlenmiştir. Ceza infaz kurumuna veya tutukevine psikoaktif madde sokma fiili 297. maddede ağırlaştırıcı neden olarak düzenlenmiştir.

Türk Ceza Kanun'un 188. Maddesi psikoaktif maddelerin üretimi ve ticareti ile ilgilidir. Kanun, psikoaktif maddelerin üretimi, ithalatı ve ihracatının 20 yıldan az olmamak üzere hapis cezası ile cezalandırılacağını; satışa sunma, taşıma, depolama gibi diğer ticari faaliyetlerin ise 10 yıldan az olmamak üzere hapis cezası ile cezalandırılacağını öngörmektedir. Bu maddenin müteakip paragrafları, ticareti yapılan maddenin türüne, ticaretinin yapıldığı yere ve ticarete dahil olan kişilere bağlı olarak ağırlaştırıcı faktörler öngörmektedir. Ağırlaştırıcı faktörler arasında tacirlerin belirli mesleklere mensup olmaları ve/veya faaliyetlerini organize bir şekilde yürütmeleri de yer almaktadır. Ceza Kanunu'nun 190. maddesi doğrudan psikoaktif madde ticareti ile ilgili olmayıp, aktif veya pasif tedbirlerle psikoaktif madde ticaretini kolaylaştıranlara yönelik hükümler içermektedir. Psikoaktif maddelerin kullanımını teşvik etme suçu bu maddenin ikinci fıkrasında tanımlanmıştır ⁴⁰.

Türk Ceza Kanunu'nun 191. maddesinde kullanmak amacıyla uyuşturucu veya uyarıcı madde satın alınması, kabul edilmesi, bulundurulması ya da kullanması eylemine

ilişkin yaptırımlar düzenlenmektedir. Kişi, kullanmak amacıyla sayılan eylemleri gerçekleştirdiğinde, hakkında başlatılan soruşturmada Cumhuriyet savcısı tarafından beş yıl süreyle kamu davasının açılmasının ertelenmesine karar verilmektedir. Erteleme süresi içerisinde kişi hakkında asgari bir yıl süreyle denetimli serbestlik tedbiri uygulanır. Hakkında denetimli serbestlik kararı verilen kişiye gerek görülmesi halinde denetimli serbestlik süresi içinde tedavide uygulanabilir. Kişinin erteleme süresi zarfında kendisine yüklenen yükümlülöklere veya uygulanan tedavinin gereklerine uygun davranmamakta ısrar etmesi, tekrar kullanmak için uyuşturucu veya uyarıcı madde satın alması, kabul etmesi veya bulundurması, uyuşturucu veya uyarıcı madde kullanması hâlinde, hakkında kamu davası açılmakta ve iki yıldan beş yıla kadar hapis cezası ile cezalandırılmaktadır. Kamu davasının açılmasından sonra suçun tekrar islendiğı iddiasıyla açılan soruşturmalarda artık kamu davasının açılmasının ertelenmesine karar verilmemektedir ⁴¹.

Türk Ceza Kanunu'nun 192. maddesi, farklı zaman dilimleri ve failin farklı davranışlarını dikkate alarak, bu alandaki suçlar için özel olarak etkin pişmanlığı düzenlemektedir: Buna göre, uyuşturucu veya uyarıcı madde imal ve ticareti suçunu işleyen kişi, yetkili makamlar tarafından haber alınmadan önce, diğeri suç ortakları ile uyuşturucu veya uyarıcı maddelerin saklandığı veya imal edildiğı yerler hakkında yetkili makamlara bilgi verirse, verilen bilgi suç ortaklarının yakalanmasına veya uyuşturucu veya uyarıcı maddelerin ele geçirilmesine neden olmuşsa, hakkında cezaya hükmolunmaz (fık. 1) ³⁸.

Cezaevlerine psikoaktif maddelerin sokulması, Ceza Kanunu'nun 297. maddesi uyarınca özel olarak cezalandırılmaktadır ⁴⁰.

2.3.3.4. 5271 sayılı Ceza Muhakemesi Kanunu

Ceza yargılamalarının yürütölmesine ilişkin kurallar ile bu yargılamalarda yer alan kişilerin hakları, yetkileri ve görevleri 5271 sayılı Ceza Muhakemesi Kanunu'nda düzenlenmiştir. Ceza Muhakemesi Kanunu'nun dördüncü bölümü koruyucu tedbirleri içermektedir. Arama ve el koyma gibi genel soruşturma tedbirlerinin yanı sıra özel soruşturma tedbirlerine de yer verilmiştir. Özel soruşturma tedbirlerinin neredeyse tamamı uyuşturucu ve uyarıcı madde imal ve ticaretine uygulanabilmektedir. Taşınmazlara, hak ve alacaklara el konulması Ceza Muhakemesi Kanunu'nun 128. maddesinde; postaya el

konulması 129. maddesinde; bir şirketin idaresi için kayyum atanması 133. maddesinde; iletişimin tespiti, dinlenmesi ve kayda alınması 135. maddesinde; gizli soruşturmacı görevlendirilmesi 139. maddesinde; teknik araçlarla izleme 140. maddesinde düzenlenen bu işlemler uyuşturucu veya uyarıcı madde imal ve ticareti suçlarında koruma tedbirlerinde kullanılabilir ⁴¹.

2.3.3.5. 2918 Sayılı Karayolları Trafik Kanunu (KTK)

KTK'nın 48. maddesi uyarınca, karayollarında araç kullanan kişilerin uyuşturucu veya uyarıcı madde etkisi altında olup olmadıklarının tespiti için kolluk tarafından teknik cihazlar kullanılır (fık. 2). Kişinin yaralanma veya ölümle sonuçlanan bir trafik kazasına karışması ya da kolluk kuvvetlerinin müdahale ettiği maddi hasarlı bir trafik kazasına karışması halinde, 2. fıkrada belirtilen teste tabi tutulması zorunludur. Teknik cihazla ölçüm yapılmasını reddeden veya bu cihazla ölçüm yapılmasına izin vermeyen sürücüler, en yakın adli tıp kurumuna veya adli tabibe ya da Sağlık Bakanlığı'na bağlı sağlık kuruluşlarına götürülerek uyuşturucu veya uyarıcı madde tespiti için vücutlarından kan, tükürük veya idrar gibi örnekler alınır. Bu işlem hakkında 5 inci fıkra hariç Ceza Muhakemesi Kanununun 75 inci maddesi hükümleri uygulanır (fık. 3). Trafik kazası sonucunda bir kişinin ölmesi veya teknik cihaza üfleyemeyecek derecede yaralanması halinde, bu kişilerden 3'üncü fıkra hükümlerine göre kan, tükürük veya idrar gibi örnekler alınır (fık. 4). Sürücünün uyuşturucu veya uyarıcı madde aldığından şüphelenilmesi halinde, Ceza Muhakemesi Kanununun adli kolluğa ilişkin hükümleri uygulanır (fık. 10) ³⁸.

2.3.3.6. 4721 sayılı Türk Medeni Kanunu

Uyuşturucu veya uyarıcı madde bağımlılığı nedeniyle toplum için tehlike oluşturan kişilerin idari bir tedbir olarak koruma amacıyla özgürlüklerinin kısıtlanması Türk Medeni Kanunu'nun 432. maddesinde düzenlenmiştir. Bu maddeye göre, akıl hastalığı, akıl zayıflığı, alkol düşkünlüğü, uyuşturucu madde bağımlılığı, ağır tehlike arz eden bulaşıcı bir hastalık veya serserilik nedeniyle toplum için tehlike oluşturan her ergin kişi, tedavisi, eğitimi veya ıslahı için uygun bir kuruma yerleştirilir ya da kişisel korunmasının başka şekilde sağlanamaması hâlinde alıkonulabilir. Görevleri sırasında bu nedenlerden birinin varlığından

haberdar olan kamu görevlileri, durumu derhal yetkili vesayet makamına bildirmekle yükümlüdür.

Aynı kanunun 433. maddesine göre, ilgili kişinin ikamet ettiği yerdeki vesayet makamı veya gecikmesinde sakınca bulunan hallerde vesayet makamı, yerleştirme veya alıkoyma kararı verme yetkisine sahiptir. Yerleştirme veya alıkoyma kararı veren vesayet makamı, kişiyi kurumdan çıkarma yetkisine de sahiptir ⁴¹.

2.4. Psikoaktif Maddelerin Biyolojik Örneklerden İzlenmesi

2.4.1. Kan

Kan/plazma ve serum, psikoaktif maddeleri kalitatif ve kantitatif analiz etmek için adli toksikoloji laboratuvarlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Psikoaktif madde kullanımı sonrası yaklaşık 24- 48 saatlik tespit pencerelerine sahip oldukları için kullanıcıların madde etkisi altında olup olmadığını belirlemek için oldukça önemli bir matristir. Bu nedenlerden dolayı ayrıca terapötik ilaç izlemede de yaygın olarak kullanılırlar, çünkü canlı hastalarda bir maddenin dozu en çok bu matrislerdeki konsantrasyonuyla ilişkilidir ⁴². Kan örneğinin toplanması invaziv ve enfeksiyon riski oluşturmasından dolayı önemli sorunlar oluşturmaktadır. Ayrıca kan örneğinin mutlaka bir sağlık personeli tarafından alınması gerekliliği ise diğer bir sınırlayıcı unsurdur ⁴³.

Klinik ve adli toksikolojide önemli bir yeri olan diğer bir kan örneği ise kurumuş kan damlası (KKD) örnekleridir. Bu örneklerin saklanması, transferi ve toplanması tam kana göre daha kolaydır. Ayrıca oda ısısı şartlarında saklanması büyük bir avantajdır. Tam kana göre KKD'nin toplanmasında daha az sarf malzeme (enjektör, kan alma tüpü) kullanılmaktadır, bu malzemelerin üretimi, satın alınması, depolanması ve imha edilmesi süreçleri de düşünüldüğünde hem ekonomiye hem de çevreye olan maliyeti oldukça düşüktür ⁴⁴.

2.4.2. İdrar

İdrar psikoaktif maddeleri tespit etmek ve taramak için yaygın olarak kullanılan bir matristir. Çoğu psikoaktif madde analizi için tespit penceresi 2-3 gün olduğundan önceki madde kullanımını belirlemek için kullanılabilir. Ancak pozitif bulunan herhangi bir psikoaktif madde kan örneği gibi kişinin madde etkisi altında olduğunu göstermez.

Çoğunlukla matris sudan oluştuğu ve analize müdahale eden nispeten az sayıda endojen bileşik içerdiği için madde taraması için ideal bir matristir. Ana maddeden ziyade idrarda ana madde ve metabolitlerinin taranmaktadır. Bu durum bazı test türleri için bu bir avantaj olarak görülebilir. Örneğin, spesifik eroin metaboliti olan 6-MAM idrarda tespit edilerek yasa dışı morfin kullanımını reçetesiz satılan bir preparattan veya reçeteli bir çeşitten ayırt etmek mümkündür ⁴².

Toplanması ve analiz edilmesi kan örneğinden daha kolaydır. İdrar örneği kandan çok daha uzun madde tespit imkânı sunmaktadır. Çoğu psikoaktif madde türünün tek bir dozundan sonra dahi ana madde veya metaboliti birkaç gün boyunca idrarda bulunabilir. Bununla birlikte, düzenli esrar kullanıcıları, esrar kullanımını sonlandırdıktan sonra birkaç hafta, hatta birkaç ay boyunca pozitif bir idrar örneğine sahip olabilir. İdrar örneği alındıktan sonra seyreltme veya hile yapılma olasılığı açısından mutlaka kontrol edilmelidir. Alınan idrar örneğine geçerlilik testleri yapılmalıdır. İdrarın sıcaklığı, rengi, yoğunluğu, kreatin düzeyi, pH'sı ve nitrit içeriği bakımından değerlendirilmelidir ⁴³.

2.4.3. Saç

Saç analizi idrar, kan ve ağız sıvısına göre daha geniş bir tespit süresine sahiptir (Tablo 1). Kan ve idrar örnekleri birkaç saatlik ve birkaç günlük madde kullanımı hakkında bilgi verirken, saç analizi, uzun bir süre boyunca madde kullanımı hakkında bilgi sağladığından ve ayrıca kötüye kullanılan ilaçlar hakkında da kanıt sağlayabildiğinden adli toksikoloji alanında çok önemli bir matristir ⁴⁵. Saç analizinin diğer geleneksel biyolojik numunelere göre avantajları; kolay ve noninvaziv toplama (mahremiyeti ihlal etmez), kolay taşıma ve depolama (uzun stabilite), ihmal edilebilir enfeksiyon riski ve aylardan yıllara kadar geriye dönük ve kümülatif madde maruziyetinin değerlendirilmesidir. Ayrıca, saçın daha küçük parçalara bölündüğü ve ayrı ayrı analiz edildiği segmental analiz yoluyla kronik madde kullanımını değerlendirmek ve ayrıca görüntüleme kütle spektrometresi ile birlikte matris destekli lazer desorpsiyon/ionizasyon (MALDI) kullanarak tek bir saç örneğindeki ilaçları bulmak ve karakterize etmek mümkündür ⁴⁶.

Saç örneklerinin ayrıca segmental analizi ile, son birkaç ay, belki de bir yıl veya daha uzun bir süre boyunca madde kullanımının tarihsel bir özeti elde edilebilir. Bir santimetre

saç yaklaşık bir aylık büyümeye karşılık gelir ve bir santimetrede bulunan madde, o ay boyunca madde alımını temsil eder. Ancak, saç analizi son bir hafta içindeki madde kullanımını her zaman tespit edemez, çünkü psikoaktif madde içeren saçlar, saç folikülüne dahil edildikten birkaç gün sonra deri yüzeyinin üzerinde görünür. Maddelerin saçta geçiş mekanizması tam olarak bilinmese de ilaçların saç oluşumu sırasında kan, sebum ve terden ve dış ortamdan girebileceği öne sürülmektedir ⁴⁷.

Saça yapılan renklendirme veya ağartma gibi işlemler madde konsantrasyonlarını önemli ölçüde azaltabilmektedir. Madde konsantrasyonlarının saç rengiyle ilişkili olabileceği de iddia edilmiştir, böylece etnik bir önyargı da ortaya çıkmaktadır. Genel olarak, koyu pigmentli saçlar açık pigmentli saçlara göre daha fazla miktarda maddeye bağlanma eğilimindedir, çünkü analitlerin renkli saçlarda bulunan melanine daha iyi bağlanmaktadır. Melanin hidrofobik ve asidik bir yapıya sahiptir, kokain, kodein ve ketamin gibi alkali ilaçlara olan afinitesi daha fazladır. Lipofilik ve bazik moleküller polar analitlere göre saçta daha fazla tutulur⁴⁶. Saç analizinin önemli bir sınırlaması yüksek analitik maliyetidir⁴⁸.

2.4.4. Ter

Ter, ekrin ve apokrin ter bezleri tarafından üretilen sıvıdır. Bu sıvı esas olarak su (yaklaşık %99) ve elektrolitler, karbonhidratlar, amino asitler, üre, laktat ve diğer organik bileşiklerden oluşur. Ter hafif asidik bir yapıya sahiptir, ortalama pH 6,3'tür. Ancak cinsiyet, yaş ve fiziksel egzersiz gibi faktörler bu değeri değiştirebilir (5,2 ila 6,9 arasında değişebilir). Normal çevre koşulları altında bir bireyin tüm vücudu tarafından günlük olarak terlenen ter hacminin 300 ila 700 mL arasındadır ⁴⁶.

Ter toplama işlemi noninvaziv, basit ve güvenli bir şekilde gerçekleştirilebilir. Buna ek olarak, daha az karmaşık bir bileşime sahiptir, daha kolay işlenebilir ve daha az patojen bulaşma riskine sahiptir. Ek olarak, ter örnekleri belirli bir zaman dilimi içinde bir birey tarafından atılan maddelerin kümülatif bir kaydını temsil edebilir. Bu sıvı zaman zaman kana kıyasla maddelerin tanımlanması için daha büyük bir tespit penceresi sağlar: ksenobiyotikler maruziyetten 14 gün sonrasına kadar terde tespit edilebilir ⁴⁶. Ancak, bu matriste analitlerin uygun şekilde tespit edilebilmesi için daha hassas analitik tekniklerin kullanılması gerekir.

Ek olarak, çevresel kontaminasyon ve maddelerin deri tarafından yeniden emilmesi olasılığına ilişkin bilgi eksikliği bulunmaktadır ⁴⁹.

2.4.5. Tükürük (Ağız İçi Sıvısı)

Ağız sıvısı, kan ve idrara göre birçok avantajı nedeniyle psikoaktif maddelerin analizinde kullanılmaktadır (Tablo 1). Ağız sıvısı toplanması kolay, non-invaziv ve kan almaya kıyasla daha düşük enfeksiyon riskine sahiptir. Ağız sıvısı örnekleri gözetim altında toplanabildiği için hileli işlemlerin uygulanması daha zordur. Ağız sıvısında maddelerin tespit süresi (5-48 saat) kandakine (1-2 gün) benzerdir. Kısa tespit süreleri nedeniyle, yakın zamanda madde kullanımına işaret ettiğinden özellikle madde etkisi altında araç kullanma (DUID) vakalarının teyit analizi için uygun bir matristir ⁴⁵.

Ağız içi sıvısındaki madde konsantrasyonları plazma serbest madde konsantrasyonları ve maddelerin farmakolojik etkileriyle ilişkilendirilebilir. Ağız sıvısı madde konsantrasyonları, bağlanmamış, iyonize olmamış ana maddenin veya lipofilik metabolitlerinin kan veya plazma konsantrasyonlarıyla ilişkilidir. Kan-beyin bariyeri gibi hücre membranlarını geçen ve fizyolojik etkilere neden olan serbest lipofilik ilaç ve metabolitleri olduğundan, plazmadaki serbest ilaç ve bunun tükürükteki yansıması ilaç etkileriyle ilişkilendirilebilir. Bu nedenle tükürükteki ilaç varlığı ve konsantrasyonu, kan veya plazmadaki ilaç varlığı ve ilaç konsantrasyonlarının belirlenmesi ile aynı bilgileri sağlar ².

Ağız sıvısı bulaşıcı ajanları içerebilir ve insan biyolojik sıvıları için uygun evrensel önlemlerle ele alınmalıdır. Tükürük, mukopolisakkaritler ve mukoproteinler içerir, bu da onu idrardan daha az akışkan veya pipetlenir hale getirir. Bazı tıbbi durumlar veya anksiyete tükürük salgılanmasını engelleyebilir ve ağız kuruluşuna neden olabilir; bu nedenle, ağız sıvısı her zaman toplanamayabilir. Ayrıca, tükürük ilaç konsantrasyonları plazma ilaç konsantrasyonlarına bağlı olduğundan, plazma yarı ömrü kısa olan ve vücuttan hızla atılan ilaçlar tükürükte sadece kısa bir süre için tespit edilebilir. Bu durum diğer biyolojik örneklerle göre potansiyel bir dezavantajdır. Tükürük ve kan en kısa tespit penceresine sahiptir. Genel olarak, ilaçlar plazma ve tükürükte ilacın genel dolaşıma girdiği andan itibaren uygulamadan yaklaşık dört yarı ömür sonrasına kadar tespit edilebilir ^{2,45}.

Tablo 1. Farklı biyolojik örneklerin birbirlerine göre bazı avantaj ve dezavantajları

	Kan	Ağız içi sıvısı	İdrar	Saç
Maksimum madde tespit süresi ¹	1-2 gün	1-2 gün	2-4 gün ³	3-6 ay
Hileli işlemler	Yok	Düşük	Yüksek	Orta ⁴
Çevresel kontaminasyon riski	Hayır	Hayır	Hayır	Evet
Reddetme oranı	Yüksek	Düşük	Orta	Yüksek
Madde kullanımı sonrası negatif sonuç olasılığı	Düşük	Orta	Düşük	Orta-yüksek
Yerinde tarama imkânı	Hayır	Evet	Evet	Hayır
Analitik maliyet ²	Orta	Orta	Orta	Yüksek

¹Tek bir doz alımından sonra yaklaşık tespit süreleri maddeden maddeye değişir. ²Doğrulama testi dahil.

³Birkaç haftaya kadar esrar. ⁴Saç boyama veya ağartma.

2.4.6. Nefes

Nefes, alternatif bir matris olarak kullanılan bir biyolojik örnektir. Nefes örneğinin kolay toplanması ve girişimsel olmamasından dolayı adli ve klinik laboratuvarlarda kullanımı giderek artmaktadır. Nefes örneği, kan örneği alma ihtiyacını ortadan kaldırarak özellikle trafikte yol kenarında kullanılabilirliği sayesinde polis memurlarının gecikmeden şüpheliden olay yerinde örnek almasını mümkün kılmaktadır ⁵⁰.

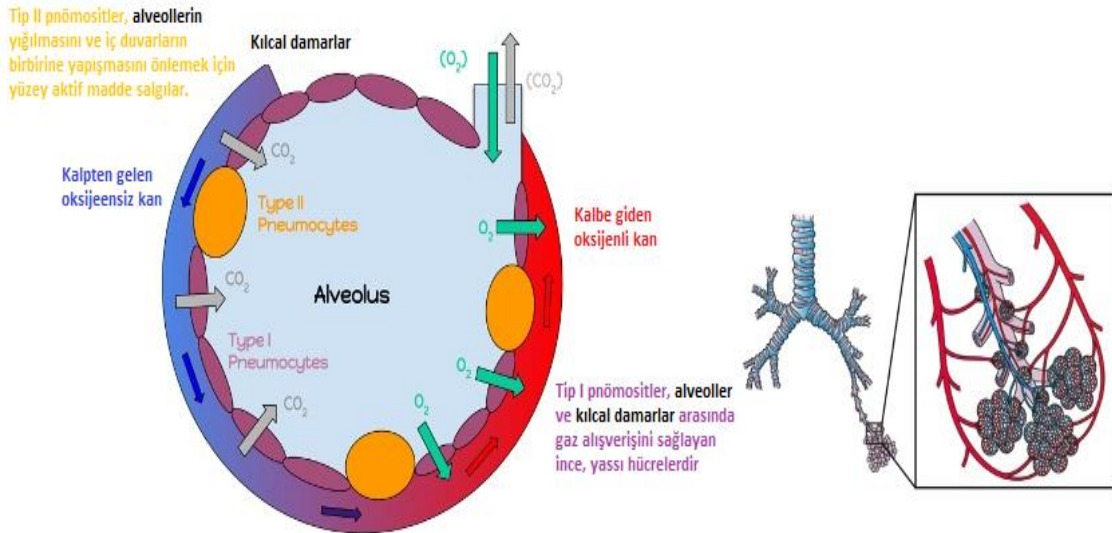
Doğal olarak, tüm biyolojik örnek alma yöntemlerinin artıları ve eksileri vardır. Analiz açısından bakıldığında nefes örneği, kan, plazma ve idrara göre daha basit bir kimyasal matrise sahip olma avantajına sahiptir. Kullanılan analitik araçların yeterince hassas olduğu göz önüne alındığında, nefesin analiz edilmesi daha kolaydır. Ayrıca, nefes örneği kişinin günler hatta bir ay önce bir maddeyle temas edip etmediğini değil, örnek alma sırasında madde etkisi altında olup olmadığını yanıtlayan bir tespit penceresine sahiptir. Bu durum, özellikle iş yeri ya da trafikte yol kenarında madde kullanımı ile ilgili soruların ele alınmasında önemli yere sahiptir ⁵¹.

2.4.6.1 Nefesin Oluşum Mekanizması ve Psikoaktif Maddelerin Tespiti

İnsan nefesi, endojen kaynaklı lipidlerden ve peptitlerden oluşan aerosol partikülleri içermektedir. Bu partiküller, normal solunum sırasında solunum yolunu kaplayan sıvıdan oluşur ⁵². Psikoaktif maddeler gibi ekzojen bileşikler de bu aerosol partikülleri tarafından taşındığı yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir ⁵³⁻⁵⁶. Solunum hareketine bakılmaksızın, bu

parçacıklar her zaman ekshale edilen nefeste oluşmakta, klinik ve adli biyobelirteçler geliştirmek için kullanılmaktadırlar. Akut zehirlenme sonucu iyileşmeyi takiben 47 bağımlılık hastasının yakın tarihli bir çalışmasında, ekshale nefes testi; anket, kan ve idrar analizlerine kıyasla çok çeşitli maddelerde yüksek bir tespit oranı sağladığı bulunmuştur⁵⁷. Ekshale nefes, en sık istismar edilen maddelerin alımını tespit etmek için kullanılabilir bir örnek olarak görünmektedir⁵⁸.

Ekshale edilen nefes hem uçucu hem de uçucu olmayan bileşikler içerir. Uçucu olmayan bileşenleri içeren kısım, aerosol partiküller formunda bulunur. Yaklaşık 1 μm çapındaki parçacıklar insan nefesinde her zaman bulunur, çoğu parçacık çapı $<1 \mu\text{m}$ 'dir. Bu parçacıklar inhalasyon sırasında, küçük hava yolları tekrar açıldığında ve solunum yolunu kaplayan sıvı (Surfaktan) dağıldığında oluşurlar (Şekil 8). Uçucu olmayan bileşikler dahil olmak üzere çok sayıda madde içerdiğinden ekshale nefes parçacıkları, madde izlemenin potansiyel biyobelirteci olarak kullanılabilirler⁵⁹.



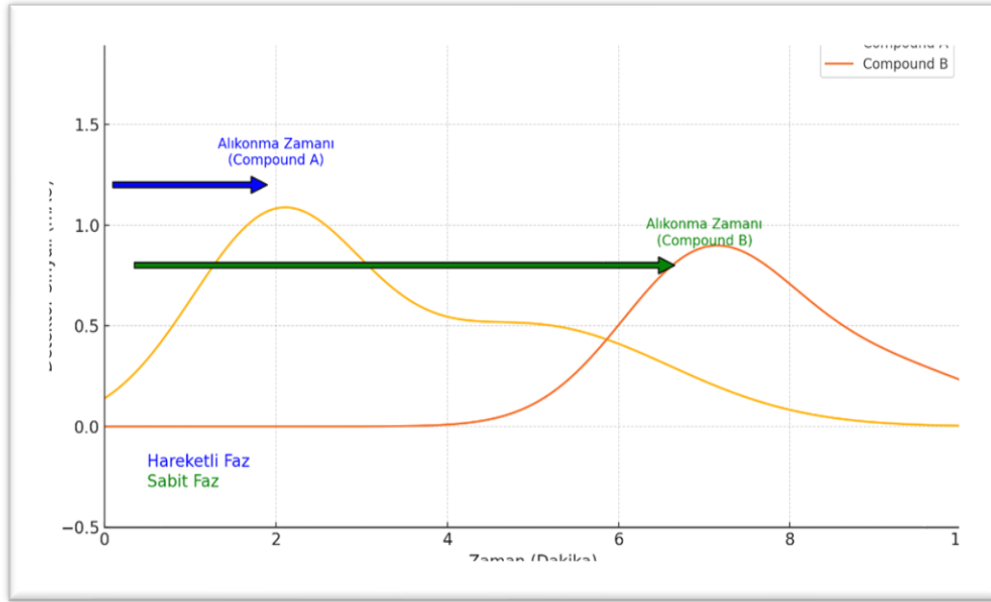
Şekil 8. Alveolar kapillerlerdeki gaz alışverişi

Son zamanlarda, suistimal edilen yasal veya yasa dışı maddelerin analizi için nefes örneklerine ilgi duyulmaya başlanmıştır. Nefes örneği, adli boyutlarda madde kullanıcılarının saptanmasında etkili bir uygulama iken klinik boyutta ise tedavi programlarının ayrılmaz bir parçası haline gelmektedir.

2.5. Kromatografi

Kromatografinin evrensel bir tanımı, bir numunedeki bileşenlerinin biri hareketli ve diğeri sabit bir faz olmak üzere iki faz arasında diferansiyel dağılımına dayanan bir ayırma işlemidir. Kromatografi ilk olarak 1900 yılında İtalyan asıllı Rus bilim adamı Mikhail Tsvet tarafından Kazan Üniversitesi'nde geliştirilmiştir. Tsvet bu tekniği geliştirmiş ve kromatografi terimini 20. yüzyılın başında, öncelikle klorofil, karotenler ve ksantofiller gibi bitki pigmentlerinin ayrıştırılması için kullanmıştır^{60,61}.

Kromatografi terimini kesin olarak tanımlamak zordur çünkü bu isim çeşitli sistem ve tekniklere verilmiştir. Ancak bu yöntemlerin hepsinde ortak olan, sabit bir faz ve hareketli bir fazın kullanılmasıdır. Bir karışımın bileşenleri, hareketli bir fazın akışı ile sabit faz boyunca taşınır ve ayrımlar, hareketli faz bileşenleri arasındaki göç hızlarındaki farklılıklara dayanır. Hareketli faz aracılığıyla taşınan örneğin içerisindeki çeşitli maddeler, sabit fazla kimyasal etkileşime girerler ve bu etkileşim sonucunda sabit fazı farklı sürelerde terk ederler. Bu olaya alıkonma zamanı (retention time [rt]) denir (Şekil 9). Dakika cinsinden ölçülen alıkonma süresi, belirli analitik koşullar altında hedef analitlerin benzersiz özellikleriyle birbirinden ayrılmasını sağlamaktadır^{60,61}.



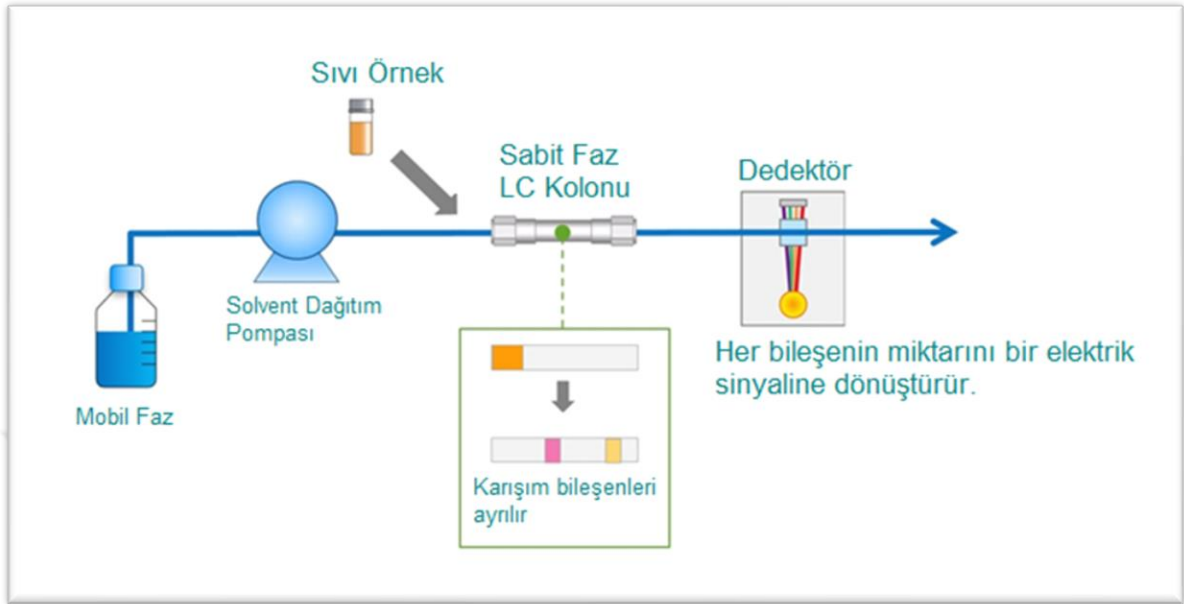
Şekil 9. Alıkonma zamanına ait kromatogram görüntüsü

Kromatografi tekniği ayrılma bişimlerine göre (dağılma, jel, iyon değiştirme vb.), faz tiplerine göre (sıvı ve gaz) ve uygulama bişimlerine göre (kolon, düzlemsel), sınıflandırılabilir. Faz tipine göre olan sınıflandırmada temel olarak ikiye ayrılır. Hareketli faz gaz ise, gaz kromatografisi (GC); sıvı ise, sıvı kromatografisi (LC) olarak tanımlanır^{60,61}.

2.5.1. Sıvı Kromatografisi

Sıvı kromatografi, kimyasal bileşiklerin ayrılması, tanımlanması ve miktarlarının belirlenmesi için yaygın olarak kullanılan analitik bir tekniktir. Bu yöntem, özellikle karmaşık karışımların analizinde etkin bir ara tır⁶². Sıvı kromatografi, ilk olarak 1900'l  yılların başında Rus botanikçi Mikhail Tsvet tarafından bitki pigmentlerinin ayrılması için geliştirilmiştir. Ancak modern yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) 1960'larda geliştirilmiş ve bu süreç, analiz hızını ve duyarlılığını önemli ölçüde artırmıřtır⁶³.

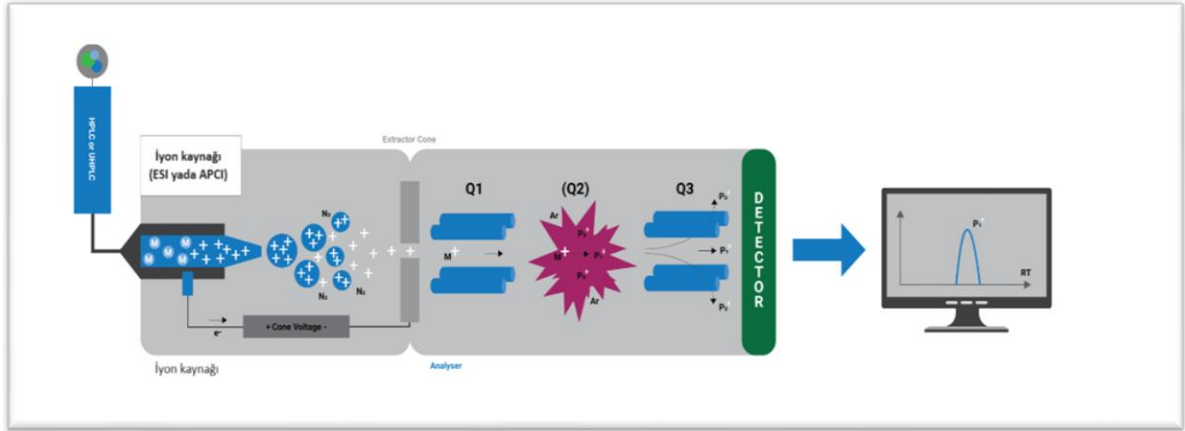
şekil 10, HPLC işlemine genel bir bakış sunmaktadır. HPLC analizinde, sıvı numunedeki bileşenleri ayırmak için kullanılan çözücüye mobil faz denir. Mobil faz, sabit faz olarak bilinen ayırma kolonuna iletilir ve ardından sabit bir akış hızında dedektöre pompalanır. Numuneden belirli bir miktar enjekte edilir ve bu numune kolonda ayrıştırılır. Kolonda ayrılan bileşikler, akış yönünde yer alan bir dedektör tarafından tespit edilir ve her bir bileşik tanımlanır⁶².



Şekil 10. HPLC sistemine ait şematik gösterim.

2.5.2. Sıvı Kromatografisi- Ardışık (Tandem) Kütle Spektrometresi (LC-MS/MS)

Sıvı kromatografi-kütle spektrometresi/kütle spektrometresi (LC-MS/MS), HPLC'nin fiziksel ayırma yetenekleri ile kütle spektrometrisinin (MS) kütle analiz yeteneklerini birleştiren bir analitik kimya tekniğidir. Eşleşmiş kromatografi-MS sistemleri, her iki tekniğin de bireysel yeteneklerinin sinerjik olarak geliştirildiği kimyasal analizlerde oldukça popülerdir. Sıvı kromatografi, karışımları çoklu bileşenlerle ayırırken; kütle spektrometresi, yüksek moleküler özgüllük ve algılama duyarlılığı ile bireysel bileşenlerin yapısal kimliğini sağlamaktadır. LC ünitesinden ayrıştırılmış analitler iyonlaştırılarak MS/MS ünitesine gönderilir. MS/MS ünitesinde iyonlar ilk quadropolden kütle/yük (m/z) oranlarında ayrıştırılır ve ardından collision cell adı verilen girişim hücreğine yönlendirilir. Burada, yüksek saflıkta azot gazı ile çarpıştırılan moleküller parçalanarak ikinci quadropole gönderilir. İkinci quadropol ünitesindeki bu ikinci iyonlar da m/z oranlarında ayrıştırılarak kütleli olarak tayin edilirler (Şekil 11). Aynı m/z oranına sahip pek çok molekül olabileceği halde, aynı parçalanma iyonlarına sahip moleküllerin doğada bulunma oranı 1/10000 civarındadır. Bu tandem tekniği, biyokimyasal, organik ve inorganik bileşikler çevresel ve biyolojik kaynaklı karmaşık örneklerde hassas bir şekilde analiz etmek için tercih edilir^{60,62}.



Şekil 11. Ardışık kütle spektrometresi sisteminin şematik gösterimi.

Bir LC cihazının kütle spektrometresi ile ara yüzlemesi yeni bir teknik değildir, ancak teknolojiye son gelişmeler bu yaklaşımı çok daha yaygın bir analiz yöntemi haline getirmiştir. Birçok farklı LC prosedürü mevcuttur ve hepsi çok karmaşık matrislerde bile analitlerin ayrılmasına izin verir. Birçok yönden LC, GC'ye göre avantajlar sunar. Tipik olarak, ekstraksiyon prosedürleri GC'ye göre daha az kapsamlıdır, türevlendirme gerektirmez (böylece zamandan ve masraftan tasarruf edilir) ve yüksek sıcaklıkta stabil olmayan birçok bileşik LC ile çok daha iyi sonuç vermektedir. Atmosferik basınç CI (APCI), atmosferik basınç fotoiyonizasyon (APPI) ve elektrosprey iyonizasyon (ESI) gibi birçok farklı teknik, LC atığını kütle spektrometresine aktarmak için kullanılmaktadır. Bu yöntemler, örnekleri atmosferik basınçta iyonize etme kabiliyetiyle birlikte, LC'yi birçok farklı analitle ve çok daha az zorluklar ile kullanılabilir hale getirmektedir ⁴.

LC-MS/MS, yüksek hassasiyeti, analit özgüllüğü, aynı anda birçok maddenin analizini yapma kapasitesi, bilinmeyen maddeleri ve metabolitleri tespit etme yeteneği, pek çok matrise ile uyumluluğu ve geniş analit yelpazeyle adli bilimlerin alanında başta olmak üzere kozmetik, tıp, tarım, ilaç ve gıda gibi çeşitli önemli alanlarda sıkça tercih edilmektedir. Bu doktora tez çalışması LC-MS/MS teknolojisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

2.6. Validasyon

Adli toksikolojide yöntem doğrulama, güvenilir sonuçlar elde etmek için kritik öneme sahiptir. Validasyonun amacı, bir yöntemin kullanım amacına uygun düzeyde başarılı bir

performans sergileyebildiğini gösteren nesnel kanıtlar oluşturmak ve normal çalışma koşulları altında yöntemin sınırlamalarını belirlemektir. Adli bilimler alanında, Amerikan Adli Bilimler Akademisi (AAFS)'nin önerdiği ANSI/ASB 036 (Adli Toksikolojide Yöntem Doğrulama için Standart Uygulamalar) yöntem doğrulama için hazırladığı kılavuzlar kullanılmaktadır. Bu kılavuzlar, bir adli toksikoloji laboratuvarının metot validasyonunun kabul edilebilir olması için ihtiyaç duyduğu minimum gereklilikleri ana hatlarıyla belirlemektedir. Yasal alanda ise, metot validasyonu sonuçların genel güvenilirliği açısından önemlidir. *Bu doktora tez kapsamında* geliştirilen analitik yöntem, ANSI/ASB Standard 036 kılavuzundaki validasyon parametreleri takip edilerek valide edilmiştir. ANSI/ASB Standard 036 kılavuzuna göre yeni bir yöntemin validasyonu için gerekli basamaklar aşağıda yer almaktadır ⁶⁴.

2.6.1. Seçicilik (selectivity)

Seçicilik, herhangi bir matris girişiminin (interference) mevcut olup olmadığının belirlemesidir. Deney için asgari olarak altı farklı matris kaynağı kullanılması önerilmektedir. Bu matrisler dahili standartla (iç standart-internal standard) birlikte ve dahili standart olmadan analiz edilmelidir. Matrisin dahili standart olmadan analizi, matristen kaynaklanan girişim olup olmadığını belirleyecektir. Dahili standart ile analiz, analistin dahili standardın yapısal girişimlerden arınmış olup olmadığını belirlemesini sağlayacaktır ⁶⁴.

2.6.2. Özgüllük (specifity)

Bir yöntemin özgüllüğü, validasyon sırasında değerlendirilmesi gereken en önemli faktörlerden biridir. Özgüllük, bir analiti yapısal olarak benzer olan bileşiklerden (bir madde metaboliti ya da madde sınıfının bir başka üyesi veya diğer yapısal analoglar) ayırma yeteneğidir. Özgüllüğü değerlendirmek için matris, potansiyel olarak girişim yapan bileşiklerin varlığındaki analitler ile ve analitler olmadan analiz edilmelidir ⁶⁴.

2.6.3. Doğrusallık (linearity)

Bir yöntemin doğrusallığı, analitin konsantrasyonları ile dedektör yanıtları arasındaki doğrusal ilişkinin belirlenmesiyle değerlendirilir. Buradaki amaç, ölçüm sonuçlarının

güvenilir ve tekrarlanabilir olmasını sağlamaktır. Doğrusallık çalışmaları genellikle kalibrasyon eğrisi, iç standart ekleme ve standart ekleme yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilir. Kalibrasyon eğrisi, bilinen konsantrasyonlardaki standart çözeltiler kullanılarak hazırlanır. Dedektör yanıtları bu çözeltilerin konsantrasyonlarına karşı grafiğe dökülür ve doğrusal bir ilişki aranır. Eğim, kesişim ve korrelasyon katsayısı (r) doğrusallığı veren parametrelerdir. Korelasyon katsayısı ($r > 0.999$) 1'e yakın olmalıdır ve değerler çizilen doğrunun üzerinde yer almalıdır. Bu yöntem basit ve yaygın olarak kullanılmasına rağmen, matris etkilerinin göz ardı edilmesi durumunda yanılma payı artabilir. İç standart ekleme yöntemi, özellikle kantitatif analizlerde doğrusallık çalışmaları için sıklıkla kullanılır. İç standartlar, hedef analite kimyasal yapısı bakımından benzeyen ancak matris içinde doğal olarak bulunmayan maddelerdir. Bu standartlar, örnek hazırlama ve analiz sürecindeki kayıpları ve hataları düzeltmeye yardımcı olur. İç standart kullanımı, matris etkisinin olduğu karmaşık örneklerde bile doğrusallığın korunmasına yardımcı olabilir ⁶⁴.

Doğrusallık çalışmaları, analitik yöntemlerin güvenilirliğini artırmak için kritik öneme sahiptir. İç standart ve standart ekleme yöntemleri, matris etkisinin yönetilmesinde ve doğru sonuçların elde edilmesinde etkin araçlardır. Bu yöntemlerin doğru kullanımı, analitik sonuçların güvenilirliğini ve doğruluğunu önemli ölçüde artırır.

2.6.4. Tespit Limiti (LOD) ve Tayin Limiti (LOQ)

Tespit limiti (LOD), analizi yapılan örneğin kalitatif olarak tespit edilebildiği fakat kantitatif sınırlar içerisine girmeyen en düşük derişimdir. Doğrudan yapılan deneylerden veya hesaplama bulunabilir. Bulunan değerin güvenilirliğini sağlamak amacıyla aksi belirtilmedikçe en az 10 tekrarlı analiz yapılması önerilir. LOD değerinin belirlenmesi için çeşitli yöntemler kullanılabilir, ancak bu çalışmada sinyal/gürültü (S/N) oranı yöntemi tercih edilmiştir ⁶⁴. Buna göre, LOD değeri şu şekilde hesaplanmıştır:

$$LOD = 3 \times S/N$$

Bu formül, analitin sinyalinin en yakın gürültü sinyalinden 3 kat daha büyük olduğu konsantrasyonu ifade etmektedir.

LOQ (tayin sınırı) ise, bir analitin örnek içinde kantitatif olarak belirlenebildiği en düşük konsantrasyonu ifade etmektedir. LOD değeri gibi LOQ da çeşitli yöntemlerle hesaplanabilir, ancak bu çalışmada S/N oranı yöntemi ile hesaplanmıştır ⁶⁴.

$$LOQ = 10 \times S/N$$

LOQ, analit sinyalinin en yakın gürültü sinyalinden 10 kat daha büyük olduğu konsantrasyonu ifade etmektedir.

2.6.5. Doğruluk (Accuracy) ve Kesinlik (precision)

Doğruluk, ölçülen değer doğru ya da doğru kabul edilen değere yakınlığını gösterir. Sistemik hata (bias) ya da bağıl hata ile verilir. Sertifikalı referans standart maddelerin tayininden elde edilen sonuç ile aynı maddenin kullanılan yöntemle elde edilen sonuçları karşılaştırılarak elde edilir. Bir yöntem için doğruluk, geri kazanım çalışmaları ile belirlenir ⁶⁴. Geri kazanım hesaplama formülü *Denklem 1*'de gösterilmiştir.

$$\% \text{ Geri kazanım (GK)} = \frac{C_{ex} - C_{spk}}{C_{spk}} \times 100$$

Denklem 1. Yüzde Geri kazanım hesaplama formülü

Formüldeki C_{ex} ; referans standart eklenmiş örneğin analiz edilmesi ile bulunan konsantrasyon olup, C_{spk} ise; örneğin analiz edildikten sonra referans standart eklenmiş konsantrasyon değerine karşılık gelmektedir.

Kesinlik ise, ölçüm sonuçlarının birbirlerine yakınlığını (tekrarlanabilirliği) gösterir. Kesinlik çalışmasında sonuçlar standart sapma (SD) ve yüzde bağıl standart sapma (%RSD) cinsinden ifade edilmektedir. Takip edilen kılavuzda üç farklı konsantrasyon seviyesinde (düşük, orta ve yüksek) örneklerin en az 5 tekrarlı analiz edilmesi gerektiği belirtilmiştir ⁶⁴. Kesinlik 3 gruba ayrılarak incelenmektedir;

- 1) **Tekrarlanabilirlik (Gün içi tekrarlanabilirlik):** Aynı gün, aynı araştırmacı, aynı laboratuvar ve aynı cihaz ile üç farklı konsantrasyondaki en az 5 tekrarlı örneğin

analiz edilmesidir. Sonuçların birbirine olan yakınlığı SD ve % RSD cinsinden değerlendirilir.

2) **Orta-Kesinlik (Günler arası tekrarlanabilirlik):** Farklı günlerde, aynı araştırmacı, aynı laboratuvar ve aynı cihaz ile üç farklı konsantrasyondaki en az 5 tekrarlı örneğin analiz edilmesidir. Sonuçların birbirine olan yakınlığı SD ve % RSD cinsinden değerlendirilir.

3) **Tekrar Üretilirlik (Reproducibility):** Laboratuvarlar arası kesinliğin tayini için istenen bir parametredir. Sonuçların birbirine olan yakınlığı SD ve % RSD cinsinden değerlendirilir.

ANSI/ASB Standard 036 kılavuzuna göre yöntemin kesinlik kriterlerini sağlaması için %RSD değerinin %20'den küçük olması gerekmektedir⁶⁴. SD ve %RSD formülleri sırasıyla *denklem 2 ve 3'te* verilmiştir.

$$\text{Standart sapma (SD)} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n - 1}}$$

Denklem 2. Standart sapma formülü

* X_i ; İlk ölçüm değeri, $\bar{X}$; ölçümlerin ortalaması, n ; ölçüm sayısı

$$\text{Bağıl standart sapma (\%RSD)} = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100$$

Denklem 3. Bağıl standart sapma formülü

2.6.6. Matris Etkisi (matrix effect)

Matristen gelen koelüe maddeler analit sinyalinin baskılayarak iyon baskılanmasına neden olabilir. Metot geliştirme sırasında düzeltilmediği takdirde, matris etkileri kantitatif sapmaya neden olabilir. Bu etkiler numuneler arasında ve kan, idrar gibi farklı biyolojik matrisler arasında farklılıklar gösterebilir. Girişimler numune matrislerinden, ekstraksiyon prosedüründen, çözücülerden, mobil fazdan ve hatta ekstraksiyon prosedüründe kullanılan

cam eşyalar veya plastik tüplerden kaynaklanabilir. Analitlerin farklı kimyasal özellikleriyle ilgili diğer faktörler de iyon baskılanmasına neden olabilir. İyon bastırma veya artırma derecesi kantitatif sonuçların kesinliğini ve doğruluğunu olumsuz etkileyebilir ^{4,64}.

Matris etkileri (ME) tipik olarak kolon sonrası infüzyon ve ekstraksiyon sonrası ekleme teknikleri kullanılarak değerlendirilir. Kolon sonrası infüzyon, tüm kromatografik çalışma sırasında iyon bastırma veya arttırmanın değerlendirilmesini sağlayan bir yaklaşımdır. Analitin kaynağa sürekli infüzyonu ve aynı anda boş (blank) matrisin enjekte edilmesi, iyon bastırma veya arttırma bölgelerinin tanımlanmasını sağlar. Sonuç olarak kromatografik ayırmalar optimize edilebilir. Buna karşılık, ekstraksiyon sonrası ekleme, matris etkisinin ilgilenilen alıkonma zamanında sayısal olarak belirlenmesine izin vermesi anlamında bir tekniktir. ME ve ekstraksiyon verimliliği çalışmaları eş zamanlı olarak gerçekleştirilebilir. Ekstraksiyon verimliliği, ekstraksiyon sonrası matrise eklenen analit ile ekstraktlardaki sinyal yoğunluğu karşılaştırılarak benzer bir şekilde belirlenebilir ⁶⁴. Özetle, matris etkileri analitik yöntemin kalibrasyon aralığına bağlı olarak düşük ve yüksek konsantrasyonlarda belirlenmelidir. İyon bastırma, ek numune hazırlama, dahili standartların kullanımı, mobil faz seçimi, kaynak koşulları ve LC optimizasyonu ile en aza indirilebilir ve/veya hesaba katılabilir.

2.6.7. Taşınma (Carry-over)

Analitin bir sonraki numuneye taşınması, hatalı kalitatif veya kantitatif sonuçlara yol açabilir. Taşınmanın değerlendirilmesinde, yüksek konsantrasyonlu bir kontrolün ardından ekstrakte edilmiş bir blank analizi verilerek hangi konsantrasyonda taşınma olduğu belirlenir. Boş matris numunesinde hiçbir analit taşınmadığının gözlenmediği en yüksek analit konsantrasyonu, metodun taşınım içermediği konsantrasyon olarak belirlenir. Analist, yönteme daha fazla iğne yıkaması ekleyerek veya LC analizi için yıkama çözücüsünü değiştirerek taşınmayı ele almak için cihaz faktörlerini ayarlayabilir.

2.6.8. Stabilité (stability)

Analit stabilitesi, saklama koşulları ve örnek işleme dahil olmak üzere bir dizi değişkenden etkilenebilir. Değerlendirilmesi gereken alanlar arasında işlenmiş örnek

stabilitesi ve örnek depolama stabilitesi yer almalıdır. Laboratuvar çalışmalarında mutlaka stabilite deneyleri tasarlanmalı ve gerçekleştirilmelidir. Numune işleme stabilitesi saklama koşullarını da içermelidir ⁶⁴. Sıcaklık, pH ve zaman gibi faktörlerin biri değişip diğerleri sabit kalacak şekilde stabilite çalışmaları yapılmalıdır.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu tez çalışmasında gerçek örneklerin toplanabilmesi için Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 22 Temmuz 20022 tarihinde, 124. toplantısında, 12 no'lu karar ile etik onay alınmıştır (EK-3). Ayrıca bu çalışma, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TDK-2022-14618 numaralı proje koduyla mali olarak destek sağlanmıştır.

3.2. Kullanılan Kimyasallar

Deneysel çalışmalar aşamasında kullanılan tüm kimyasallar ve markaları Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasallar ve marka bilgileri.

Kimyasal	Marka
Metanol-LC grade (MeOH)	Merck
Ultra saf su	Merck
Formik asit (FA) (%98-100)	Merck
Amonyak (%25)	Merck

Deneysel çalışmalar aşamasında kullanılan sertifikalı referans standart maddelerin listesi Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3. Deneysel çalışmalarda kullanılan sertifikalı referans standart madde listesi

No	Referans standart madde adı	Marka
1	Morfin (MOR)	Lipomed
2	Kodein (COD)	Lipomed
3	6-MAM	Lipomed
4	Asetil kodein (AC-COD)	Chiron
5	Amfetamin (AMP)	Lipomed
6	Metamfetamin (METHAMP)	Lipomed
7	MDMA	Lipomed
8	MDA	Lipomed
9	MDEA	Lipomed
10	Kokain (COC)	Lipomed
11	Benzoilekgonin (BZG)	Lipomed
12	Norkokain (NCOC)	Lipomed
13	Kokaetilen (COCE)	Chiron
14	Δ 9-THC	Chiron
15	THC-OH	Lipomed
16	THC-COOH	Lipomed
17	Tebain (TEB)	Lipomed
18	THC-A	Cayman
19	Mitraginin (MTG)	Chiron
20	Ksilazin (XYL)	Chiron
21	Buprenorfin (BUP)	Lipomed
22	Ketamin (KET)	Lipomed
23	Gabapentin (GABAP)	Chiron
24	Pregabalin (PRGB)	Chiron

3.2. Kullanılan Ekipmanlar

Deneysel çalışmaları sırasında kullanılan ekipman ve analitik sistemler Tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 4. Deneysel çalışmalarda kullanılan ekipmanlar, analitik sistemler ve marka bilgileri.

Ekipmanlar ve Analitik Sistemler	Marka Bilgileri
Likit Kromatografi-Tandem Kütle Spektrometresi (LC-MS/MS)	Shimadzu 8050 triple quadrupole systems
Allure PFPP 5 µm Kolon (50 x 2.1 mm)	Restek
Ultrasonikatör	Hy Teknoloji
Vorteks	Velp Scientifica
Örnek yoğunlaştırıcı	Maxilab Biotechnology, MS3-MaxiCon3
Cam tüp	Isolab
Vial/Vial kapağı	Isolab
Mikropipet	Transferpette
Buzdolabı (+4 °C ve -20 °C)	Beko

3.3. Nefes Toplama Cihazının Geliştirilmesi ve Optimizasyonu

3.3.1. Uygun Malzeme Seçimi

Malzeme seçiminde; filtre malzemesi olarak uygunluk, test süresince maruz kalacağı kimyasal ortam (metanol) ve örnek aparatın malzemesi gibi parametreler dikkate alınarak çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

Örnek toplama aparatın filtresi ve dış kabı *polypropylene (PP)* malzemeden yapılmıştır. Ancak alternatif malzemeler de araştırılmıştır. Filtre malzemesi olarak genelde *PP*, *PVC (polyvinyl chloride)*, *PC (polycarbonate)*, *PTFE (polytetrafluoroethylene)*, *PVDF (polyvinylidene fluoride)*, *MCE (mixed cellulose esters)*, *PES (polyether sulfone)* ve *Nyl (nylon)* kullanılmaktadır. Projedeki önemli kısıtlayıcı faktör metanol ile uyumlu olmasıdır. Tablo 5'te filtre malzemelerin metanol ile kimyasal uyumluluğu çalışmalarının sonuçları gösterilmiştir. Buna göre, PVC, MCE, NY kullanılması uygun bulunmamıştır. PP, PC, PTFE, PVDF metanol ile uyumlu malzemelerdir.

Bu malzemelerden, PP düşük maliyetli olması ve ticari kullanım alanı oldukça geniş olması nedeniyle tercih edilmiştir. Ayrıca toksisite açısından da güvenle kullanılabilen bir malzemedir. Tüm bu hususlar dikkate alınarak PP malzemesi ön plana çıkmaktadır.

Tablo 5. Filtre malzemelerinin kimyasal uyumluluk tablosu

Malzeme türü	Kimyasal uyumluluk (Metanol)
PP (Polypropylene)	+++
PVC (polyvinyl chloride)	-
PC (polycarbonate)	+++
PTFE (polytetrafluoroethylene)	+++
PVDF (polyvinylidene fluoride)	+++
MCE (mixed cellulose esters)	-
PES (polyether sulfone)	+
Nyl (nylon)	-

3.3.2. Üretim Metodu

Düşük maliyetli, hızlı üretim için 3D yazıcı ile ve PP malzeme ile deneme yapılmıştır. (Şekil 12). Oluşturulan ve uygunluğuna karar verilen Nefes Toplama Aracının üretimi, *hizmet alımı* yapılarak gerçekleştirilmiştir. 2022/019282 başvuru numaralı “Nefes Toplama Cihazı” başlıklı **patent** başvurusu yapılmıştır.



Şekil 12. 3D printer’la üretilen Nefes Toplama aparatı ve içerisindeki filtrelerin görüntüsü

3.4. Ekstraksiyon Yöntemlerinin Optimizasyonu

Ekstraksiyon çalışmasında 3 farklı metot denemesi yapılmıştır. Buradaki amaç, en iyi geri kazanım sonucu ile en uygun ekstraksiyon metodunu optimize etmektir. Yapılan ekstraksiyon metotları ise;

Metot 1: Öncelikle filtreler 75 pg/filtre olacak şekilde psikoaktif madde karışımı ve 10 pg/filtre iç standart eklendi. Bu filtreler cam tüp içerisinde 2 x 3 mL metanol ile yıkandı. Yıkama sonrası cam tüp içerisine %10'luk formik asit çözeltisinden 20 µL eklendi. Daha sonra solüsyonlar azot gazı altında ve 40°C'de uçuruldu. Uçurulan örnekler 2 farklı çözündürme yöntemi uygulanması denendi.

- Örnekler 25 µL metanol, 25 µL %0,1'lik amonyaklı metanol ile çözündürülüp, analiz için LC-MS/MS cihazına verilmiştir (M1-MA).
- Örnekler yalnızca 50 µL metanol ile çözündürülüp, analiz için LC-MS/MS cihazına verilmiştir (M1-M).

Metot 2: Öncelikle filtreler 75 pg/filtre olacak şekilde psikoaktif madde karışımı ve 10 pg/filtre iç standart eklendi. Bu filtreler cam tüp içerisine alınıp üzerlerine 2 x 3 mL metanol eklendi. Filtreler vortekslenip, 5 dk beklendi. Daha sonra, cam tüp içerisine %10'luk formik asit çözeltisinden 20 µL eklendi ve azot gazı altında, 40°C'de uçuruldu. Uçurulan örnekler 2 farklı çözündürme yöntemi uygulanması denendi.

- Örnekler 25 µL metanol, 25 µL %0,1'lik amonyaklı metanol ile çözündürülüp, analiz için LC-MS/MS cihazına verilmiştir (M2-MA).
- Örnekler yalnızca 50 µL metanol ile çözündürülüp, analiz için LC-MS/MS cihazına verilmiştir (M2-M).

Metot 3: Öncelikle filtreler 75 pg/filtre olacak şekilde psikoaktif madde karışımı ve 10 pg/filtre iç standart eklendi. Bu filtreler cam tüp içerisine alınıp üzerlerine 2 x 3 mL metanol eklendi. Filtreler ultrasonik banyoda 30 dk bekletildi. Daha sonra, cam tüp içerisine

%10'luk formik asit çözeltisinden 20 µL eklendi ve azot gazı altında, 40°C'de uçuruldu. Uçurulan örnekler 2 farklı çözündürme yöntemi uygulanması denendi.

- Örnekler 25 µL metanol, 25 µL %0,1'lik amonyaklı metanol ile çözündürölüp, analiz için LC-MS/MS cihazına verilmiştir (M3-MA).
- Örnekler yalnızca 50 µL metanol ile çözündürölüp, analiz için LC-MS/MS cihazına verilmiştir (M3-M).

3.5. LC-MS/MS Analiz Parametreleri

Denevler sırasında kullanılan LC-MS/MS sistemi Şekil 13'te gösterilmiştir. Çalışma kapsamdaki tüm maddelere uygun analitik ayırma yöntemi için cihazın akış programları optimize edilmiştir. Tüm maddeler için en uygun koşullarda kromatografik ayrımı sağlayan analitik koşullar ve geliştirilen yöntemin akış programına ait detaylar Tablo 6'da ve gradient programı ise Tablo 7 ve Şekil 14'te sunulmuştur.



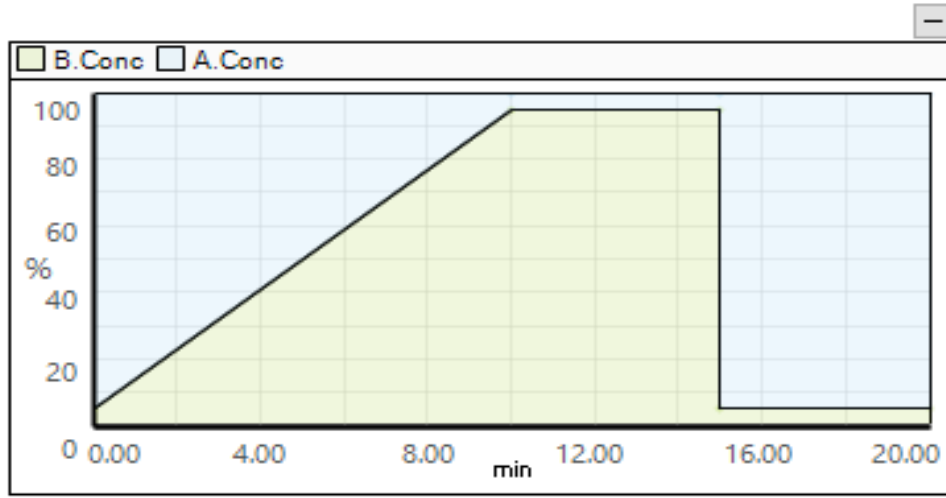
Şekil 13. Deneysel çalışmaların yapıldığı LC-MS/MS sisteminin görüntüsü

Tablo 6. Optimize edilen LC-MS/MS cihazının parametreleri.

Analitik Kolon	Allure PFPP (5 µm 50 x 2.1 mm)
İyon Kaynağı	Elektro Sprey İyonizasyon (ESI)
Akış Hızı	0,4 mL/dk
Kolon Sıcaklığı	40 ⁰ C
Mobil Faz A	1 L ultra saf su içerisinde 5mM AF
Mobil Faz B	%100 Metanol
Enjeksiyon Hacmi	5 µL
Analiz Süresi	18 dk
Nebulizing gaz akışı	3.0 L/dk
Drying gaz akışı	15.0 L/dk

Tablo 7. LC-MS/MS cihazının optimize edilen analiz gradient programı.

Zaman (dk)		%
0.01	Total Flow	0.4
0.01	Pumb B Conc.	5
10	Total Flow	0.4
10	Pump B Conc.	95
15	Total flow	0.4
15	Pump B Conc.	95
15.01	Pump B Conc.	5
15.01	Total Flow	0.4
20	Controller Stop	



Şekil 14. Gradyent programının A ve B mobil fazlarına göre akış ve zaman tablosu.

Tez kapsamında çalışılan analitlerin (n=24) ve iç standartların (ILIS) (n=8) tanımlanabilmesi için ayrıntıları Tablo 8’ de verilen Scheduled MRM (Zamanlanmış Multiple Reaction Monitoring-Çoklu Reaksiyon İzleme) modu kullanıldı. Tüm maddeler, THC-A hariç (negatif modda analiz edildi) pozitif modda analiz edildi.

Tablo 8. Analitler için elde edilen LC-MS/MS cihazının MRM geçişleri ve MS/MS parametreleri.

Analit	Öncül İyon (m/z)	Fragment İyonlar (m/z)	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)	RT (dak.)
Pregabalin	160.10	142.10	-10.0	-14.0	-28.0	1.956
		55.10	-10.0	-24.0	-21.0	
		124.10	-20.0	-18.0	-13.0	
Gabapentin	172.10	137.10	-10.0	-18.0	-25.0	1.908
		154.10	-10.0	-16.0	-16.0	
		119.10	-11.0	-19.0	-26.0	
Ksilazin	221.15	90.25	-16.0	-22.0	-19.0	9.674
		164.25	-16.0	-24.0	-17.0	
		147.30	-16.0	-23.0	-15.0	
Buprenorfin	468.20	396.20	-22.0	-43.0	-27.0	9.973
		414.20	-22.0	-35.0	-29.0	
Mitraginin	399.25	174.25	-15.0	-31.0	-18.0	10.92
		159.20	-15.0	-45.0	-17.0	

Tablo 8. Analitler için elde edilen LC-MS/MS cihazının MRM geçişleri ve MS/MS parametreleri.(Devamı)

		226.35	-15.0	-24.0	-24.0	
Diazepam-d5	290.00	227.20	-23.0	-26.0	-25.0	7.970
		198.20	-23.0	-34.0	-21.0	
Morfin	286.10	165.10	-30.0	-42.0	-30.0	4.407
		153.20	-30.0	-45.0	-27.0	
Morfin-d3	289.20	165.00	-14.0	-43.0	-30.0	4.406
		201.10	-19.0	-28.0	-21.0	
Kodein	300.20	165.20	-30.0	-46.0	-30.0	6.192
		153.20	-30.0	-47.0	-28.0	
Kodein-d3	303.10	215.10	-14.0	-26.0	-22.0	6.191
	303.00	165.10	-14.0	-46.0	-30.0	
Asetil Kodein	342.20	225.10	-11.0	-27.0	-15.0	8.358
		197.10	-11.0	-30.0	-21.0	
6-AM	328.20	211.00	-23.0	-28.0	-21.0	6.332
		193.10	-12.0	-29.0	-20.0	
		165.10	-23.0	-44.0	-30.0	
6-AM-d3	331.00	165.10	-16.0	-41.0	-30.0	6.352
		211.10	-15.0	-27.0	-22.0	
		193.10	-15.0	-30.0	-19.0	
MDA	180.10	105.10	-12.0	-22.0	-19.0	7.702
		135.10	-12.0	-21.0	-24.0	
MDMA	194.10	105.10	-22.0	-23.0	-18.0	8.239
		135.10	-22.0	-21.0	-24.0	
MDMA-d5	199.10	165.10	-22.0	-13.0	-29.0	8.295
		135.10	-23.0	-23.0	-23.0	
	199.00	107.10	-13.0	-25.0	-20.0	
MDEA	208.10	163.00	-25.0	-13.0	-16.0	9.214
		105.10	-24.0	-26.0	-19.0	
Amfetamin	136.10	91.10	-15.0	-20.0	-17.0	7.415
		119.10	-15.0	-15.0	-22.0	
Metamfetamin	150.10	91.00	-16.0	-20.0	-16.0	8.175
		119.10	-16.0	-15.0	-22.0	
Δ9-THC	315.20	123.00	-16.0	-30.0	-24.0	8.939
		193.20	-16.0	-33.0	-25.0	
THC-COOH	343.20	299.30	10.0	22.0	20.0	8.112

Tablo 8. Analitler için elde edilen LC-MS/MS cihazının MRM geçişleri ve MS/MS parametreleri.(Devamı)

	343.10	245.30	15.0	29.0	22.0	
	343.00	191.20	18.0	35.0	22.0	
THC-COOH-d3	348.20	330.20	-13.0	-17.0	-23.0	8.199
		302.30	-13.0	-20.0	-22.0	
	348.30	196.10	-17.0	-29.0	-22.0	
11-OH-THC	331.20	313.20	-12.0	-11.0	-23.0	8.782
		192.90	-20.0	-50.0	-29.0	
	331.00	200.90	-16.0	-16.0	-17.0	
THC-A	357.10	313.10	12.0	25.0	30.0	8.071
		245.10	12.0	34.0	24.0	
		190.90	12.0	35.0	18.0	
Tebain	312.10	58.15	-11.0	-17.0	-22.0	8.566
		249.10	-22.0	-17.0	-26.0	
		266.10	-21.0	-17.0	-28.0	
Ketamin	238.10	125.00	-30.0	-28.0	-22.0	7.854
		179.10	-30.0	-17.0	-18.0	
Kokain	304.20	182.10	-20.0	-21.0	-18.0	9.593
		82.10	-21.0	-30.0	-30.0	
		150.10	-21.0	-26.0	-27.0	
Kokain-d3	307.20	185.20	-15.0	-22.0	-19.0	9.763
		85.10	-11.0	-33.0	-15.0	
Benzoilekgonin	290.10	168.10	-28.0	-19.0	-18.0	4.413
		105.10	-27.0	-30.0	-20.0	
Benzoilekgonin - d3	292.60	171.10	-30.0	-21.0	-18.0	4.455
		108.10	-30.0	-48.0	-20.0	
Norkokain	290.20	168.10	-20.0	-18.0	-20.0	9.470
		136.10	-20.0	-24.0	-24.0	
		108.20	-21.0	-31.0	-21.0	
Kokaetilen	318.00	196.10	-10.0	-20.0	-21.0	10.494
		150.10	-10.0	-26.0	-16.0	
		105.10	-10.0	-34.0	-19.0	

*CE: çarpışma enerjisi, RT: alıkonma süresi, V: voltaj

3.6. Validasyon Çalışmaları

3.6.1. Seçicilik

Seçicilik çalışmalarında çözücü olarak kullanılan ve içerisinde hedef analitler bulunmayan metanol numunesi 6 tekrarlı olacak şekilde optimize edilen ekstraksiyon yöntemi ile analiz edilmiştir. Çözücünden kaynaklanabilecek herhangi bir girişimin olup olmadığı incelenmiştir. Daha sonra çözücü içerisine, hedef analitler için 75 pg/filtre, ILIS karışımı için 10 pg/filtre olacak şekilde ekleme yapılmış ve 6 tekrarlı olarak analiz edilmiştir. Aynı çalışmalar ekstraksiyon sırasında ekleme işlemlerinin yapıldığı filtre matrisine de yapılarak analiz edilen maddelerin matris kaynaklı girişiminin varlığı incelenmiştir.

3.6.2. Doğruluk

Yöntemin doğruluğunu değerlendirmek amacıyla, metanol içinde hazırlanmış toplam 13 farklı konsantrasyon seviyesinde standart çözeltiler kullanılmıştır. Analit alanının, ILIS alanına oranına göre doğrusal bir şekilde artıp artmadığını belirlemek için; 0.5, 2, 5, 20, 15, 25, 50, 75, 150, 250, 350, 500 pg/filtre konsantrasyon değerlerinde, her biri üçer kez LC-MS/MS ile analiz edilmiştir.

Doğrusallık çalışmaları, blank çözeltiden başlayarak artan konsantrasyonlarla gerçekleştirilmiş ve her bir konsantrasyon öncesinde, taşınma (carry over) etkisinden kaçınmak amacıyla analit içermeyen metanol enjekte edilmiştir. LC-MS/MS sisteminin yazılımı tarafından üretilen kalibrasyon eğrisinin doğrusallık denklemi ve korelasyon katsayısı (r) hesaplanmış olup, r değeri, takip edilen validasyon kılavuzuna göre doğrusallığın değerlendirilmesinde (>0.99) kullanılmıştır.

3.6.3. Tespit ve Tayin Limiti

LOD ve LOQ tespiti için en düşük kalibrasyon noktası ve altından başlayarak aynı derişimli örneklerin 10 tekrarlı analizi yapılmıştır. Her bir analit için ayrı ayrı S/N oranına göre değerlendirme yapılmıştır. En yüksek kalibrasyon noktası ve blank örnekleri 10 tekrarlı analiz edilmiştir. Yüksek konsantrasyonun ardından blank örnekleri verilmiştir.

3.6.4. Doğruluk ve Kesinlik

Yöntemin doğruluğu, farklı konsantrasyonlarda (düşük, orta ve yüksek) kontrol (QC) örnekleri filtrelere ekim yapılarak gerçekleştirilmiştir. Bu QC örnekleri, aynı konsantrasyonlardaki referans standart maddeler ile karşılaştırılarak %GK ve %RSD'leri hesaplanarak yöntemin doğruluğu hesaplanmıştır. Tüm doğruluk çalışmaları için kabul edilebilir aralık takip edilen kılavuza göre %80-120 olarak belirlenmiştir.

Kesinlik çalışması ise aynı gün, aynı analist tarafından (gün-içi tekrar edilebilirlik) tüm analitleri içeren farklı konsantrasyondaki (düşük, orta ve yüksek) QC örnekleri 6'şar tekrarlı, blank numune ise 3'er tekrarlı olacak şekilde çalışılmıştır. Aynı çalışma tüm parametreler aynı olacak şekilde 3 gün sonra (günler-arası tekrar edilebilirlik) tekrar çalışılmıştır. Çalışma sonuçları arasında anlamlı fark olup olmadığı one-way ANOVA testi ile değerlendirilerek, p değerinin <0.05 olması durumunda (%95 güven aralığında) sonuç anlamlı kabul edilmiştir.

Gün-içi ve günler-arası tekrar edilebilirlikten elde edilen tüm sonuçlar SD ve %RSD hesaplanarak değerlendirilmiştir. Sonuçların %RSD değerinin kılavuza göre <20 olması durumunda uygun olduğu kabul edilmiştir.

3.6.5. Matris Etki

Matris etkisi, her bir analitin 75 pg/filtre konsantrasyonuna sahip pik alanı, aynı konsantrasyona sahip metanol çözeltilisindeki pik alanı ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Matris etkisinin olmadığını %100 değeri gösterirken, kılavuza göre %70-130 arasındaki değerler kabul edilebilir matris etki olarak değerlendirilmiştir.

3.6.6. Stabilité

Nefes örneğinde stabilité çalışması planlanırken nefeste psikoaktif maddelerin tespit süreleri göz önüne alınarak planlanılmıştır. Analitlerin analizler sırasında stabil olup olmadığının değerlendirilmesi için 150 pg/filtre'lik konsantrasyonlarda filtrelere ekim yapılarak stabilité çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Filtrelerin stabilité çalışmaları farklı sıcaklıklarda (-20°C, 4°C ve 20°C) ve farklı sürelerdeki (7 gün boyunca) bekletilmesi ile analitlerin stabiliteleri araştırılmıştır. Her parametre için 3 farklı numune çalışılıp her biri 3'er tekrarlı olacak şekilde analiz edilmiştir.

3.7. Gerçek örneklerin Analizi

Validasyonu gerçekleştirilen ve optimize edilen ekstraksiyon prosedürü gerçek örnekler üzerinde çalışılmıştır. Bu tez kapsamında gerçek örnekler Manisa ilindeki Alkol ve Madde Bağımlılığı tedavi Merkezi (AMATEM)’nden toplanmıştır. Nefes örnekleri, 3D yazıcı ile üretimi yapılan (şekil 11) nefes toplama aparatı ile toplanıp, aynı kişilerden kan ve idrar örnekleri de toplanmıştır. Kişilerden aydınlatılmış onam ve anket formu doldurmaları da istenmiştir. Ekler listesinde aydınlatılmış onam ve anket formu yer almaktadır.

Nefes örnekleri toplanırken ilk nefesin boşaltılıp daha sonra solunan nefesin cihaza verilmesi istenmiştir. Bu nefes verme işlemi yaklaşık olarak art arda on-on iki kez yapılarak nefes örnekleri toplanmıştır. Nefes alma ve verme işlemlerinin cihaz üzerinden ve normal olarak yapılması istenmiştir. Nefes örneği alımından sonra, nefes toplama cihazları barkodlanıp, diğer biyolojik örneklerde (kan ve idrar) toplanıp barkodlanarak analize kadar -20 °C’de saklanmıştır. Örneklerin toplanmasından analizlerine kadar geçen süre, hedef analitlerin stabilite sonuçları göz önüne alınarak en fazla 1 ay olacak şekilde tasarlanmıştır.

Toplanan biyolojik örnekler (kan ve nefes) soğuk zincir ile Ankara Üniversitesi Adli Bilimler Enstitüsü Adli Toksikoloji Laboratuvarı’na gönderilmiştir. İdrar örnekleri ise Manisa AMATEM bünyesinde çalışılmış olup, sonuçları paylaşılmıştır. Tüm vakalardan nefes ve idrar örnekleri toplanmıştır, ancak iki vakadan kan örneği toplanamamıştır.

Nefes örnekleri (n=20) tez kapsamında valide edilen metot ile her biri üçer tekrarlı olacak şekilde (n=60) ve her bir ekstrakt üçer kez analiz edilmiştir (n=180). Kan örnekleri ise laboratuvarımızın valide metodu ile aynı şekilde analiz edilmiştir.

3.8. Verilerin İstatistiksel Analizi

Tez çalışmasının verileri IBM SPSS Statistics v27 for Windows (SPSS Inc. Chicago, IL, ABD) paket programı aracılığı ile değerlendirildi. Tanımlayıcı istatistiklerde sürekli değişkenler ortalama $\pm$ standart sapma ve aralık (minimum – maksimum) olarak, kesikli ve kategorik değişkenler ise frekans dağılımı (n), ve yüzde (%) değerler olarak sunuldu. Sürekli değişkenlerin normal dağılıp dağılmadığını belirlemek için grafik ve analitik testler (Kolmogorov-Smirnov Testi & Shapiro Wilk Testi) kullanıldı. İki bağımsız arasındaki parametrik olmadığı belirlenen değişkenlerin istatistiksel farklarının belirlenmesi için Mann-

Whitney U Testi, parametrik değişkenler için ise student's t testi kullanıldı. Bağımlı ve bağımsız gruplar arasındaki kategorik değişkenlerin istatistiksel anlamlılıklarının değerlendirilmesi için Pearson Ki-Kare, Fisher's Exact ve McNemar testleri kullanıldı. İki den fazla bağımsız gruplar arası istatistiksel farklılıklar bağımsız prediktörler ve lojistik regresyon ile değerlendirildi. Tüm istatistik analizlerin anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak seçilmiştir. Grafik ve tabloların görsel düzenlemeleri için Microsoft Office 365 Excel v.1710 (Microsoft, Redmond, Washington, ABD) programı kullanılmıştır.



4. BULGULAR

4.1. Yöntem Optimizasyonu

Analitik yöntemin optimizasyonu aşamasında analiz edilecek tüm analitler için en uygun ekstraksiyon yöntemi seçimi gerçekleştirilmiştir. Bu seçim metotların %GK'larına göre yapılmıştır. Ekstraksiyon yönteminin optimizasyonu aşamasında *Gereç ve Yöntem'ler* kısmında bahsedilen üç farklı yöntem, filtrele (n=3) 75 pg/filtre ekim yapılarak %GK üzerinden değerlendirilip sonuçlar Tablo 9'da verilmiştir. Kabul edilebilir %GK aralığı olan %80-120 aralığı göz önünde bulundurularak seçim yapılmıştır.

Tablo 9. Tezde uygulanan farklı ekstraksiyon yöntemlerine ait % GK sonuçları

ANALİTLER	M1-MA	M1-M	M2-MA	M2-M	M3-MA	M3-M
Pregabalin	76,23	80,28	48,89	58,25	nd	88,60
Gabapentin	82,70	83,30	43,54	54,75	nd	82,16
Ksilazin	68,81	86,74	49,08	59,07	28,59	68,50
Buprenorfin	87,02	93,33	44,40	48,78	nd	74,77
Mitraginin	70,19	89,44	40,20	50,52	nd	62,41
Morfin	82,10	94,95	66,20	51,65	nd	77,18
Kodein	61,81	85,96	48,23	50,22	nd	85,32
Asetil kodein	104,99	90,45	44,38	57,56	nd	101,65
6-AM	90,04	110,25	35,99	61,84	nd	78,60
MDA	90,55	106,02	45,33	55,33	nd	105,55
MDMA	72,06	100,40	38,20	37,13	nd	107,72
MDEA	72,87	85,60	41,26	50,53	nd	74,74
Amfetamin	81,26	108,81	34,94	44,90	nd	88,01
Metamfetamin	77,94	101,79	50,94	54,50	nd	77,61
Δ^9 -THC	80,24	94,49	44,56	46,05	nd	79,11
THC-COOH	75,20	105,14	88,87	60,14	nd	81,60
11-OH-THC	64,94	112,82	115,07	98,39	nd	nd
THC-A	nd	92,50	nd	nd	nd	nd
Tebain	90,28	104,52	92,50	110,72	110,05	nd
Ketamin	74,19	87,68	61,16	77,76	33,30	74,68
Kokain	65,36	90,14	41,62	49,89	nd	75,52
Benzoilekgonin	55,51	94,95	40,90	53,89	nd	75,81
Norkakin	44,56	97,38	45,73	56,67	nd	65,44
Kokaetilen	62,93	96,09	39,56	51,32	nd	104,04

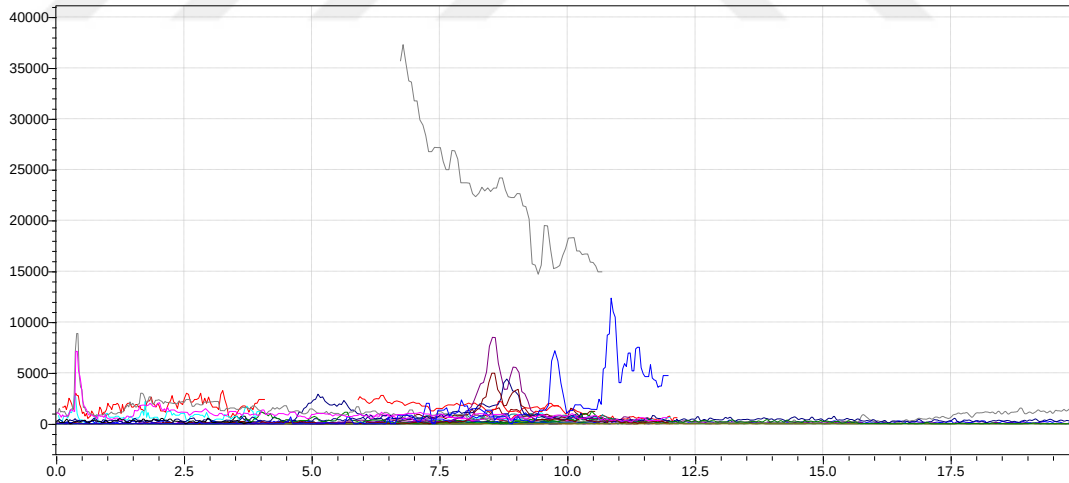
*nd: tespit edilemedi.

Çalışma sırasında uygulanan tüm yöntemler değerlendirildiğinde, en uygun yöntem olarak kabul edilebilir % GK aralığında **M1-M** yöntemi seçilmiştir. Validasyon ve gerçek örneklerin çalışmaları bu yöntem uygulanarak gerçekleştirilmiştir.

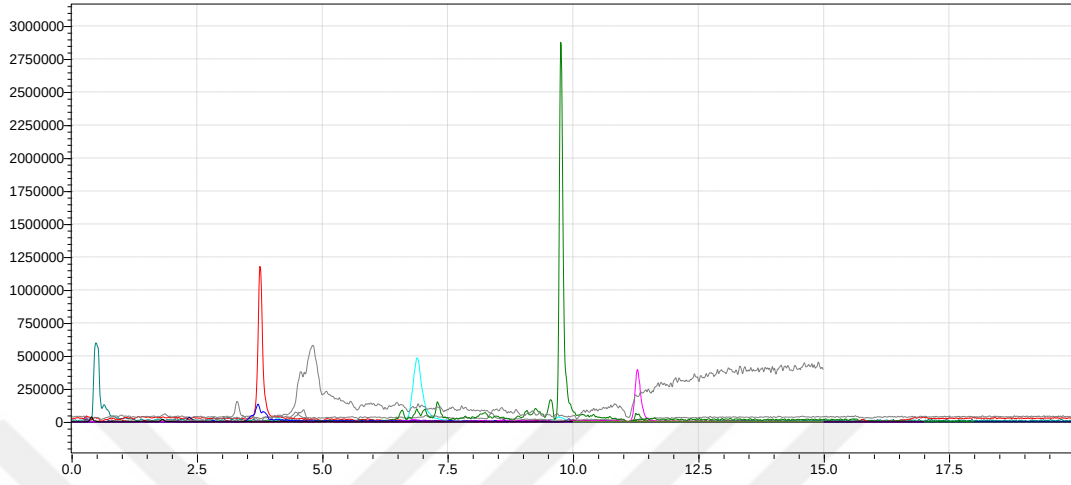
4.2. Metot Validasyonu

4.2.1. Seçicilik

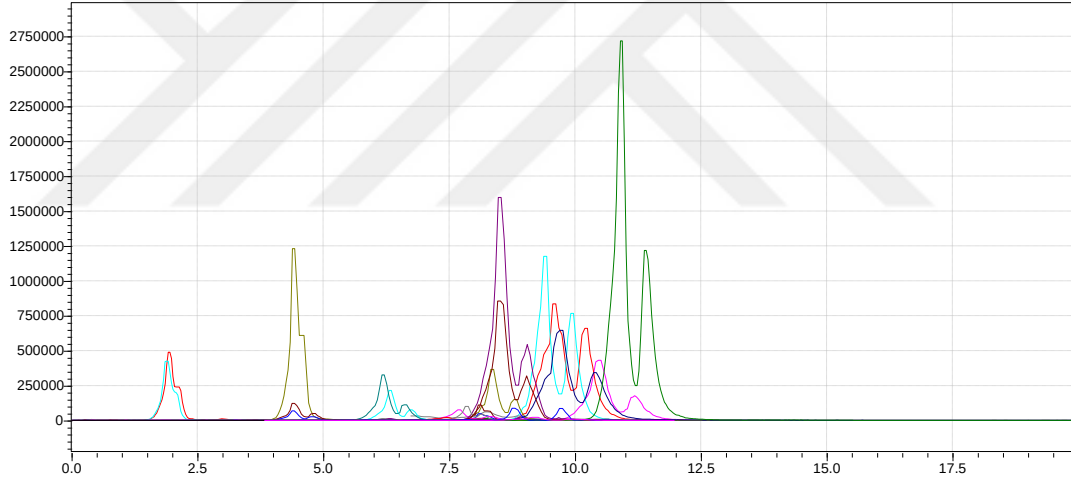
Seçicilik çalışması için kullanılan matrislerde (metanol ve nefes), her bir analit için matris kaynaklı bir girişim olup olmadığı çalışılmıştır. Bunun için öncelikle blank örnekler ve analit konsantrasyonu 75 pg/filtre, ILIS konsantrasyonu 10 pg/filtre olacak şekilde ekim yapılan nefes örnekleri analiz edilmiştir. Analiz edilen örneklerin hiçbirinde hedef analitlerin alıkonma zamanlarında matris kaynaklı bir girişim olmadığı tespit edilmiştir. Şekil 15'te ILIS ilavesiz blank (metanol), Şekil 16'da ILIS ilaveli blank (metanol) ve Şekil 17'de nefes örneğine (sadece ILIS bulunan) ait total iyon kromatogramları sunulmuştur.



Şekil 15. ILIS eklenmemiş blank metanol örneğinin total iyon kromatogramı



Şekil 16. ILIS eklenmiş blank metanol örneğinin total iyon kromatogramı



Şekil 17. ILIS ve analit eklenmiş nefes örneğine ait total iyon kromatogramı

4.2.2. Doğrusallık

Doğrusallık çalışması, bölüm 3.6.2'de belirtildiği üzere, 0.5, 2, 5, 10, 20, 25, 50, 75, 150, 250, 350, 500 pg/filtre konsantrasyonlarda filtrelelere ekim yapılarak hazırlanan noktalar analiz edilerek hazırlanmıştır. Kalibrasyonun aralıkları ve korelasyon katsayıları (r) ise Tablo 10'da verilmiştir.

Tablo 10. Analitlere ait doğrusallık çalışması kapsamında gerçekleştirilen kalibrasyona aralıkları, korelasyon katsayısı, LOD ve LOQ sonuçları

ANALİTLER	Kalibrasyon aralığı (pg/filtre)	İlgili İç Standardı (ILIS)	Korelasyon Katsayısı (r)	LOD (pg/filtre)	LOQ (pg/filtre)
Pregabalin	25- 500	Diazepam-d5	0.999	8.10	24.52
Gabapentin	10- 500	Diazepam-d5	0.999	2.55	7.73
Ksilazin	2- 500	Diazepam-d5	0.999	0.60	1.81
Buprenorfin	0.5- 500	Diazepam-d5	0.999	0.12	0.45
Mitraginin	0.5- 500	Diazepam-d5	0.999	0.14	0.42
Morfin	0.5- 500	Morfin-d3	0.999	0.13	0.43
Kodein	2- 500	Kodein-d3	0.999	0.52	1.58
Asetil kodein	2- 500	Kodein-d3	0.999	0.63	1.91
6-AM	5- 500	Morfin-d3	0.999	1.14	3.44
MDA	20- 500	MDMA-d5	0.999	5.37	16.26
MDMA	25- 500	MDMA-d5	0.999	7.46	22.60
MDEA	25- 500	MDMA-d5	0.999	8.06	24.42
Amfetamin	10- 500	MDMA-d5	0.999	1.90	5.70
Metamfetamin	10- 500	MDMA-d5	0.999	2.53	7.66
Δ9-THC	25- 500	THC-COOH-d3	0.999	7.60	23.00
THC-COOH	20- 500	THC-COOH-d3	0.999	5.21	15.80
11-OH-THC	50- 500	THC-COOH-d3	0.999	16.00	48.12
THC-A	5- 500	THC-COOH-d3	0.999	1.25	3.80
Tebain	0.5- 500	Diazepam-d5	0.999	0.16	0.48
Ketamin	2- 500	Diazepam-d5	0.999	0.59	1.78
Kokain	2- 500	Kokain-d3	0.999	0.60	1.82
Benzoilekgonin	0.5- 500	Benzoilekgonin-d3	0.999	0.13	0.40
Norkakin	2- 500	Kokain-d3	0.999	0.54	1.65
Kokaetilen	2- 500	Kokain-d3	0.999	0.57	1.82

4.2.3. Tespit ve Tayin Limiti

Çalışmadaki LOD ve LOQ değerleri Bölüm 3.6.3'te bahsedildiği şekilde hesaplanarak Tablo 10'da her bir analit için verilmiştir.

4.2.4. Doğruluk ve Kesinlik

Seçilen ekstraksiyon yöntemi ile farklı konsantrasyonlarda (düşük, orta ve yüksek) kontrol örnekleri hazırlanarak aynı konsantrasyonlardaki referans standartlar ile kıyaslanıp örneklerin %GK ve %RSD değerleri Tablo 11’de sunulmuştur. Tüm doğruluk çalışmaları için kabul edilebilir aralık ANSI/ASB Standard 036 kılavuzuna göre %80-120 olarak belirlenmiştir. Tablo 11’de de görüldüğü üzere hedef analitlerin %GK değerleri ANSI/ASB Standard 036’da belirtilen minimum gereksinimleri karşılamaktadır.

Kesinlik çalışması için yapılan gün içi ve günler arası tekrar edilebilirlik sonuçları da Tablo 12, 13 ve 14’te verilmiştir.

Tablo 11. Yöntemin doğruluk çalışmaları aşamasındaki % geri kazanım (GK) ve % bağıl standart sapma (RSD) sonuçları (gerçeklik sonuçları)

Düşük (pg/filtre) ^a			Orta (pg/filtre) ^b		Yüksek (pg/filtre) ^c	
MADDELER	%RSD	%GK	%RSD	%GK	%RSD	%GK
Pregabalin	1.96	93.90	8.17	113.37	1.93	100.12
Gabapentin	8.97	99.85	2.10	83.89	3.12	105.20
Ksilazin	1.77	93.03	4.87	94.39	1.38	110.81
Buprenorfin	11.45	109.10	8.56	84.53	3.52	116.68
Mitraginin	0.25	104.23	3.54	85.69	1.57	103.06
Morfin	4.19	111.19	0.68	96.01	5.95	102.78
Kodein	3.34	100.57	6.90	99.05	3.34	99.04
Asetil Kodein	1.67	96.56	0.22	105.76	10.10	93.52
6-AM	5.92	106.59	3.74	97.35	5.41	106.20
MDA	5.39	102.45	2.32	95.25	1.03	96.23
MDMA	6.20	97.15	2.17	95.79	7.02	104.58
MDEA	10.39	95.68	4.60	84.63	16.01	90.53
Amfetamin	10.44	94.14	1.61	102.68	3.39	103.90
Metamfetamin	10.15	97.18	5.82	85.51	3.89	104.26
Δ9-THC	4.20	103.18	4.48	102.70	7.28	104.91
THC-COOH	2.95	103.02	5.30	96.48	4.39	100.04
11-OH-THC	9.62	84.74	1.88	93.35	10.37	96.89
THC-A	10.85	104.51	1.41	90.75	6.61	96.10

Tablo 11. Yöntemin doğruluk çalışmaları aşamasındaki % geri kazanım (GK) ve % bağıl standart sapma (RSD) sonuçları (gerçeklik sonuçları)(Devamı)

Tebain	6.94	94.97	1.38	102.14	2.36	102.32
Ketamin	1.66	107.95	6.21	92.21	8.50	110.47
Kokain	1.02	112.65	4.53	99.43	3.85	92.49
Benzoilekgonin	0.74	98.60	5.71	89.68	2.73	101.71
Norkokain	0.75	111.52	11.96	87.87	1.05	97.66
Kokaetilen	0.89	113.99	7.81	88.03	5.42	101.48

^a: Tebain, morfin, benzoilekgonin, kodein, 6-AM, asetil kodein, norkokain, kokain, kokaetilen, THC-A, mitraginin, ksilazin, buprenorfin ve ketamin için **15 pg/filtre**; gabapentin, amfetamin ve metamfetamin için **50 pg/filtre**; MDEA, 11-OH-THC, pregabalin, MDA, THC-COOH, MDMA ve Δ9-THC için **75 pg/filtre**, ^b: Tebain, morfin, benzoilekgonin, kodein, 6-AM, asetil kodein, norkokain, kokain, kokaetilen, THC-A, mitraginin, ksilazin, buprenorfin ve ketamin için **75 pg/filtre**; gabapentin, amfetamin, metamfetamin, MDEA, 11-OH-THC, pregabalin, MDA, THC-COOH, MDMA ve Δ9-THC için **250 pg/filtre**, ^c: tüm analitler için **350 pg/filtre**dir.

Tablo 12. Düşük konsantrasyon (15, 50 ve 75 pg/filtre) noktaları ile yapılan gün içi ve günler arası tekrar edilebilirlik (n=6) sonuçları

MADDELER	Gün içi tekrar edilebilirlik			Günler arası tekrar edilebilirlik		
	Ort. Kons. (pg/filtre)	Bias (%)	RSD (%)	Ort. Kons. (pg/filtre)	Bias (%)	RSD (%)
Pregabalin	72.71	-3.05	1.96	71.41	-4.79	9.95
Gabapentin	47.07	-5.86	8.97	48.20	-3.60	6.29
Ksilazin	14.78	-1.50	1.77	15.46	3.04	3.91
Buprenorfin	16.39	9.23	11.45	15.14	0.94	8.82
Mitraginin	13.26	-11.13	0.25	15.11	0.77	9.30
Morfin	15.33	2.21	4.19	15.56	3.75	5.82
Kodein	16.31	8.73	3.34	15.74	4.91	4.83
Asetil Kodein	14.91	-0.59	1.67	15.70	4.68	6.11
6-AM	15.48	3.20	5.92	15.53	3.53	5.65
MDA	74.10	-1.20	5.39	72.57	-3.23	3.31
MDMA	74.13	-1.16	6.20	77.23	2.98	6.21
MDEA	78.05	4.06	10.39	76.25	1.67	6.75
Amfetamin	49.70	-0.61	10.44	50.45	0.89	7.37
Metamfetamin	51.13	2.27	10.15	49.86	-0.28	7.82
Δ9-THC	77.68	3.57	4.20	79.87	6.49	5.24
THC-COOH	80.00	6.66	2.95	74.86	-0.19	7.08
11-OH-THC	69.06	-7.93	4.16	72.24	-3.68	7.37
THC-A	13.32	-11.12	75	14.30	-4.65	9.31

Tablo 12. Düşük konsantrasyon (15, 50 ve 75 pg/filtre) noktaları ile yapılan gün içi ve günler arası tekrar edilebilirlik (n=6) sonuçları (Devamı)

Tebain	16.48	9.85	6.94	15.79	5.24	6.40
Ketamin	16.58	10.53	1.66	15.23	1.55	7.72
Kokain	14.99	-0.03	1.02	15.29	1.96	4.75
Benzoilekgonin	16.64	10.96	0.74	15.92	6.16	5.66
Norkokain	15.99	6.60	0.75	15.50	3.34	4.55
Kokaetilen	14.93	-0.49	0.89	14.72	-1.85	4.23

*Ort. Kons: Ortalama konsantrasyon

Tablo 13. Orta konsantrasyon (75 ve 250 pg/filtre) noktaları ile yapılan gün içi ve günler arası tekrar edilebilirlik (n=6) sonuçları

MADDELER	Gün içi tekrar edilebilirlik			Günler arası tekrar edilebilirlik		
	Ort. Kons. (pg/filtre)	Bias (%)	RSD (%)	Ort. Kons. (pg/filtre)	Bias (%)	RSD (%)
Pregabalin	273.79	9.52	8.17	257.95	3.18	6.28
Gabapentin	244.52	-2.19	2.10	254.21	1.68	3.27
Ksilazin	76.06	1.41	0.54	75.33	0.44	3.84
Buprenorfin	76.26	1.68	3.44	76.38	1.83	10.44
Mitraginin	75.43	0.57	4.24	75.55	0.73	5.04
Morfin	77.63	3.50	0.68	75.86	1.14	2.94
Kodein	81.03	8.04	3.64	78.64	4.85	5.99
Asetil Kodein	69.58	-7.23	5.45	70.49	-6.01	4.31
6-AM	78.27	4.36	14.49	78.31	4.41	6.78
MDA	246.40	-1.44	2.32	249.90	-0.04	1.65
MDMA	245.63	-1.75	2.17	247.55	-0.98	2.14
MDEA	243.70	-2.52	4.60	246.38	-1.45	2.36
Amfetamin	254.98	1.99	1.61	251.65	0.66	1.68
Metamfetamin	226.78	-9.29	5.82	241.71	-3.32	5.63
Δ9-THC	266.44	6.58	4.48	255.81	2.32	3.85
THC-COOH	256.64	2.66	5.30	253.54	1.42	2.60
11-OH-THC	239.91	-4.04	1.88	241.05	-3.58	1.45
THC-A	76.77	2.36	1.18	74.38	-0.83	6.80
Tebain	74.93	-0.09	4.14	74.11	-1.19	4.19
Ketamin	74.54	-0.61	1.87	74.89	-0.15	4.69
Kokain	70.76	-5.65	8.08	70.60	-5.87	3.95
Benzoilekgonin	69.64	-7.14	4.21	75.56	0.75	6.54
Norkokain	71.10	-5.21	3.58	69.42	-7.44	4.15
Kokaetilen	71.85	-4.20	2.72	75.32	0.43	11.98

*Ort. Kons: Ortalama konsantrasyon

Tablo 14. Yüksek konsantrasyon (350 pg/filtre) noktası ile yapılan gün içi ve günler arası tekrar edilebilirlik (n=6) sonuçları

MADDELER	Gün içi tekrar edilebilirlik			Günler arası tekrar edilebilirlik		
	Ort. Kons. (pg/filtre).	Bias (%)	RSD (%)	Ort. Kons. (pg/filtre)	Bias (%)	RSD (%)
Pregabalin	346.77	-0.92	1.93	344.98	-1.44	3.79
Gabapentin	356.23	1.78	3.12	352.46	0.70	2.21
Ksilazin	379.86	8.53	1.38	381.87	9.10	0.76
Buprenorfin	342.47	-2.15	3.52	340.19	-2.80	1.76
Mitraginin	340.06	-2.84	1.57	334.36	-4.47	1.59
Morfin	340.48	-2.72	5.95	347.34	-0.76	3.18
Kodein	350.10	0.03	3.34	351.74	0.50	1.55
Asetil Kodein	339.54	-2.99	10.10	346.19	-1.09	4.72
6-AM	344.64	-1.53	5.41	347.82	-0.62	2.77
MDA	345.17	-1.38	1.03	352.45	0.70	2.25
MDMA	331.53	-5.28	7.02	347.44	-0.73	4.76
MDEA	327.10	-6.54	16.01	349.58	-0.12	8.38
Amfetamin	369.46	5.56	3.39	356.89	1.97	3.32
Metamfetamin	386.32	10.38	3.89	370.37	5.82	3.87
Δ^9 -THC	337.35	-3.62	7.28	338.85	-3.19	3.39
THC-COOH	353.68	1.05	4.39	352.53	0.72	2.16
11-OH-THC	335.36	-4.18	10.37	338.03	-3.42	5.17
THC-A	366.10	4.60	6.61	368.50	5.29	3.32
Tebain	332.80	-4.91	2.36	343.24	-1.93	2.71
Ketamin	369.35	5.53	8.50	374.71	7.06	4.25
Kokain	331.26	-5.35	3.85	335.95	-4.01	2.42
Benzoilekgonin	333.27	-4.78	2.73	343.36	-1.90	2.64
Norkokain	350.10	0.03	1.05	351.71	0.49	0.87
Kokaetilen	326.64	-6.67	5.42	332.16	-5.10	2.91

*Ort. Kons: Ortalama konsantrasyon

4.2.5. Matris etkisi

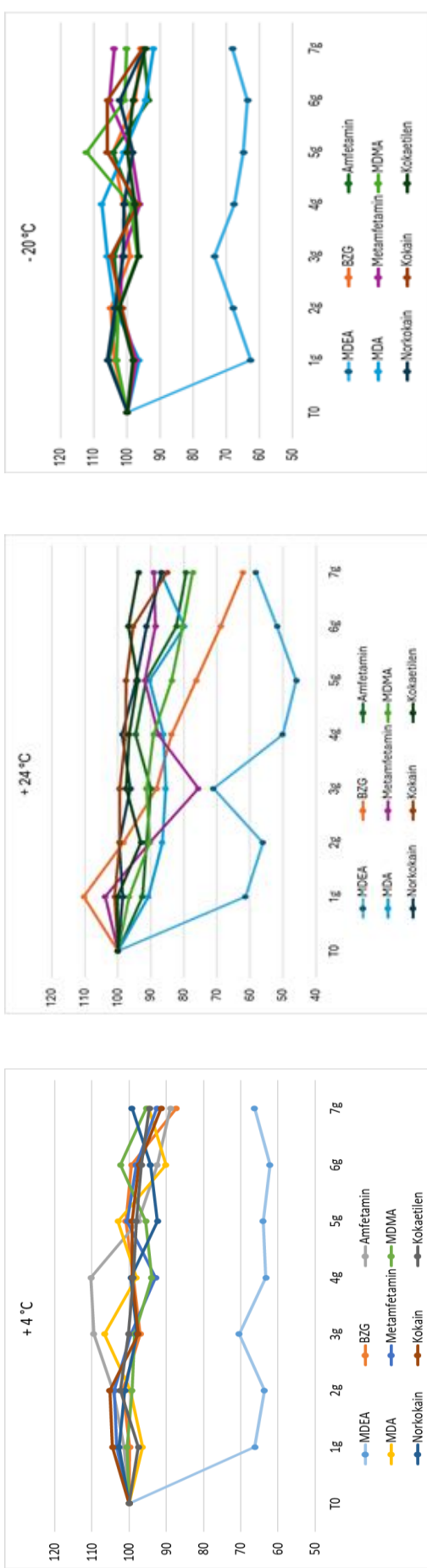
Matris etkisi, metanol ve filtreye eklenen 75 pg/filtre konsantrasyondaki analitlerin sonuçlarının alanları kıyaslanarak matrisin analitler üzerindeki etkisi olup olmadığı çalışılmıştır. Takip edilen kılavuza göre Tablo 15'te verilen değerler uyumlu olarak tespit edilmiştir.

Tablo 15. Her bir hedef analitin matris etkisi (%) sonuçları

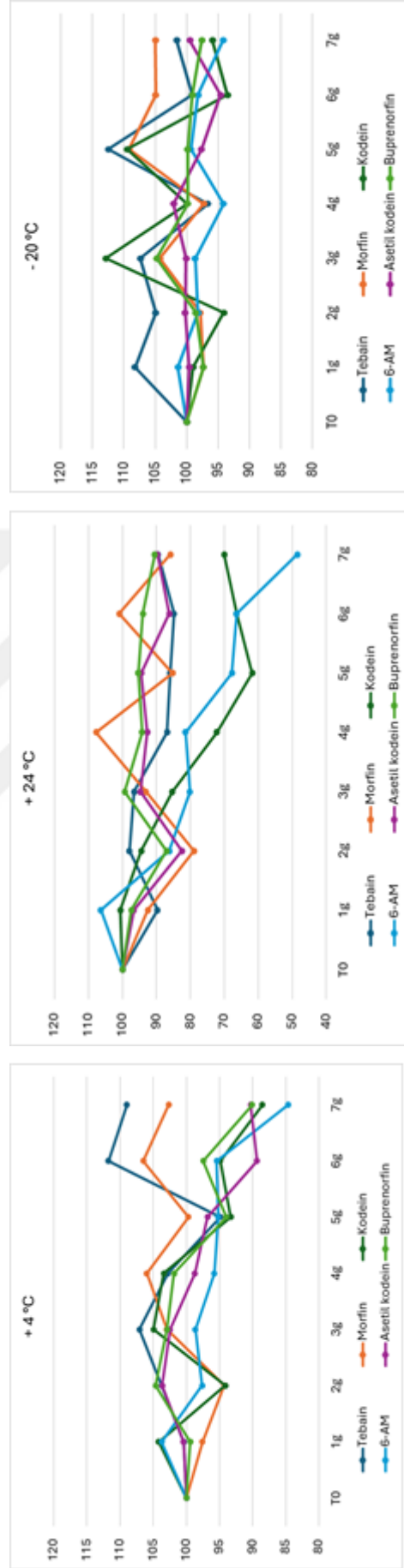
MADDELER	MATRİS ETKİSİ (%)
Pregabalin	106,50
Gabapentin	103,09
Ksilazin	94,86
Buprenorfin	121,76
Mitraginin	95,27
Morfin	104,15
Kodein	96,03
Asetil Kodein	102,01
6-AM	97,03
MDA	92,61
MDMA	112,94
MDEA	104,52
Amfetamin	84,90
Metamfetamin	93,19
Δ^9-THC	96,92
THC-COOH	87,07
11-OH-THC	113,74
THC-A	71,87
Tebain	102,90
Ketamin	96,83
Kokain	103,68
Benzoilekgonin	104,61
Norkokain	126,60
Kokaetilen	109,74

4.2.6. Stabilité

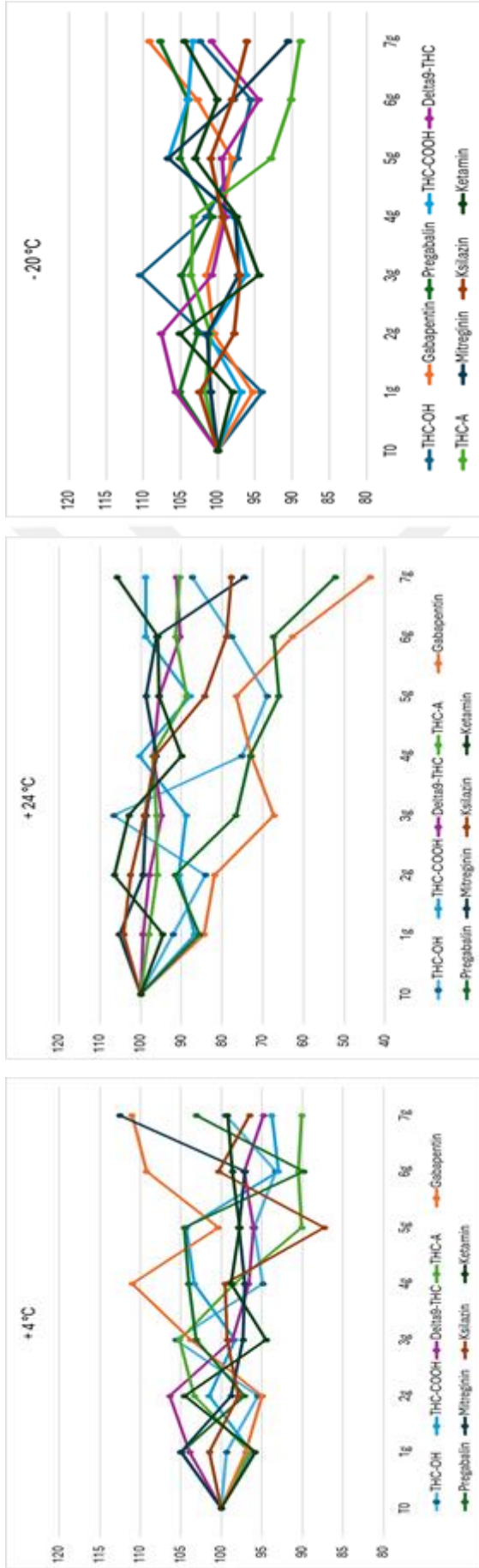
Analitlerin analiz edilene kadar ne kadar süre ve hangi koşullarda stabil olup olmadığının değerlendirilmesi için 150 pg/filtre'lik konsantrasyonlarda filtrelelere ekim yapılarak stabilité çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçları madde sayısı fazlalığından dolayı uyarıcılar, opioidler ve diğerleri olarak gruplandırılarak 3 farklı sıcaklık (+4, +24 ve -20 °C) için Şekil 18, 19 ve 20'de verilmiştir.



Şekil 18. Uyarıcıların +4, +24 ve -20 °C sıcaklıklardaki 7 günlük % değişim stabiliteleeri



Şekil 19. Opioidlerin +4, +24 ve -20 °C sıcaklıklardaki 7 günlük % değişim stabiliteleeri



Şekil 20. Diğer hedef analitlerin +4, +24 ve -20 °C sıcaklıklardaki 7 günlük % değişim stabiliteleeri

4.3. Gerçek örnekler

Tez kapsamında geliştirdiğimiz *Nefes Toplama Cihazının* performansını ve gerçek örneklerle uygulanabilirliğini test etmek amacıyla, validasyonu tamamlanan ve optimize edilen yöntem uygulanmıştır. Çalışma, 20 kişiden toplanan nefes örnekleriyle birlikte aynı kişilerden toplanan kan ve idrar örneklerinin 3'er kez analiz edilmesini kapsamaktadır. Bu kişilerden örnekler toplanırken uygulanan anket formunun verileri Tablo 16'da sunulmuştur. Toplanan örnekler -20°C'de saklanarak, soğuk zincir altında 2 ila 3 gün içerisinde laboratuvara gönderilmesi sağlanmıştır. Laboratuvara gelen örnekler hemen analiz edilmiştir. Çalışılan nefes, kan ve idrar örneklerinin sonuçları Tablo 17'de verilmiştir.

Tablo 16. Olguların demografik verileri

		Ort.	Aralık
Yaş (yıl)		32.05±9.058	17-50
Boy (cm)		172.8±10.01	156-192
Ağırlık (kg)		75.58±13.12	48-100
Cinsiyet	Kadın	3	
	Erkek	17	
Eğitim seviyesi	İlkokul	10	
	Ortaokul	6	
	Lise	2	
	Üniversite	2	
Şiddet eğilimi ve madde kullanımı	Hayır	15	
	Evet	5	
Madde kullanım sıklığı	Haftada iki kez	3	
	Haftada dört veya daha fazla	10	
	Ayda iki kez	7	

*Ort.: ortalama

Tablo 17. Gerçek örneklerde çalışılan hedef analitlerin analiz sonuçları (n=3)

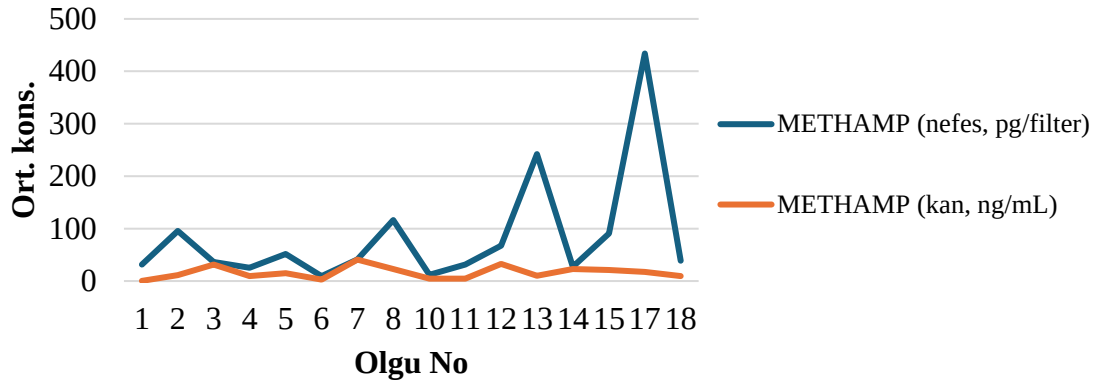
Maddeler	Nefes (pg/filtre)			Kan (ng/mL)			İdrar
	n	Ort.±SD	Kons. Aralık	n	Ort.±SD	Kons. Aralık	n
BZG	2	8.978±7.446	3.713- 14.24	1	0.690	0.690	n.d.
MOR	1	35.58	35.58	0	n.d.	n.d.	n.d.
COD	1	62.22	62.22	0	n.d.	n.d.	n.d.
6-MAM	1	38.04	38.04	0	n.d.	n.d.	n.d.
MDA	2	3.269±0.928	2.613- 3.925	1	2.143	2.143	3
AMP	13	17.43±10.76	3.247-46.50	15	9732±6.438	2.407-23.89	16
COC	2	12.92±2.415	11.22-14.63	1	0.278	0.278	0
METHAMP	18	78.08±104.4	9.385- 433.9	16	16.07±11.79	0.331- 40.89	12
MDMA	3	42.57±28.68	24.22- 75.62	3	91.22±149.6	1.664- 263.9	6
THC	1	140.2	140.2	0	n.d.	n.d.	n.d.
AC-COD	1	10.50	10.50	0	n.d.	n.d.	n.d.
GABAP	3	19.50±10.32	7.750- 27.09	4	15.23±12.72	4.133- 32.33	1
PRGB	6	60.27±45.28	15.66- 129.4	6	166.1±202.1	11.03- 510.8	6
THCA-A	4	84.52±66.80	22.45- 174.5	0	n.d.	n.d.	n.d.
THC-COOH		n.d.	n.d.	4	25.23±14.32	14.72- 46.32	5

*n: pozitiflik sayısı, n.d.: tespit edilemedi, Ort.: ortalama, Kons.: konsantrasyon

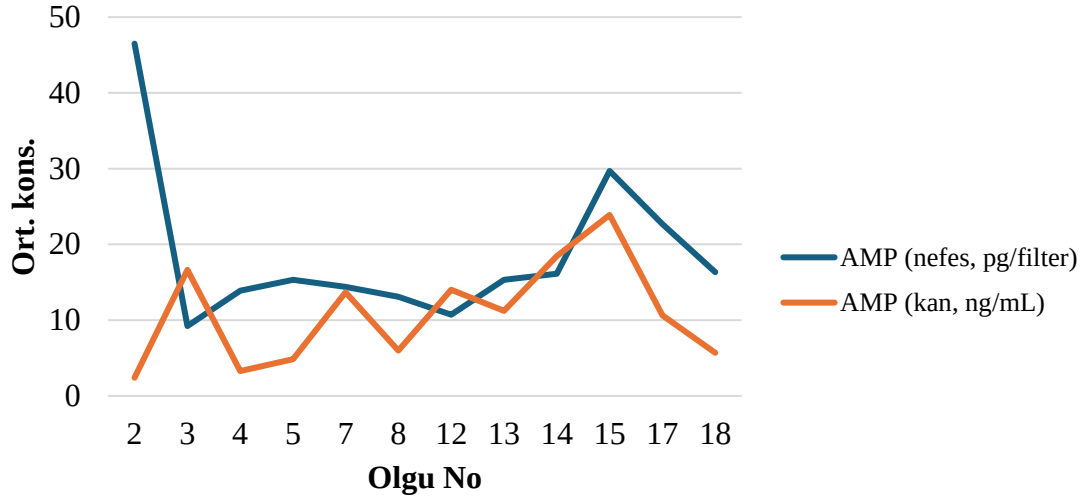
Tez kapsamında analiz edilen olguların nefes, kan ve idrar örneklerinde pozitif olarak tespit edilen hedef analitlerin karşılaştırmalı sonuçları Tablo 18’de sunulmuştur. Bu tabloda da görüldüğü üzere en sık tespit edilen Amfetamin ve Metamfetamin maddelerinin nefes ve kan örneklerinde tespit edilen ortalama konsantrasyonlarına ait grafikler ise Şekil 21 ve 22’de sunulmuştur.

Tablo 18. Olguların nefes, kan ve idrar örneklerinde tespit edilen hedef analitlerin bulunma sıklığı

	BZG			MOR			COD			6-MAM			MDA			AMP			COC			METHAMP			MDMA			THC			AC-COD			GABAP			PRGB			THCA-A			THC-COOH																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																											
	Nefes	Kan	Idrar	Nefes	Kan	Idrar	Nefes	Kan	Idrar	Nefes	Kan	Idrar	Nefes	Kan	Idrar	Nefes	Kan	Idrar	Nefes	Kan	Idrar	Nefes	Kan	Idrar	Nefes	Kan	Idrar	Nefes	Kan	Idrar	Nefes	Kan	Idrar	Nefes	Kan	Idrar	Nefes	Kan	Idrar																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																															
1	+	+																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																				



Şekil 21. Nefes ve kan örneklerinde tespit edilen metamfetamin konsantrasyonlarının olgulara göre dağılımı



Şekil 22. Nefes ve kan örneklerinde tespit edilen amfetamin konsantrasyonlarının olgulara göre dağılımı

5. TARTIŞMA

Biyolojik örneklerden psikoaktif maddelerin analizleri doping, klinik ve adli uygulamalar gibi alanlarda önemli bir laboratuvar incelemeleridir. Psikoaktif madde analizinde en yaygın olarak kullanılan biyolojik örnekler ise genellikle idrar örnekleridir ve bu yöntem, uzun ve kapsamlı bir deneyime dayanmaktadır. Ancak, idrar örnekleri toplanırken oldukça dikkatli olunması gereklidir. Çünkü idrar örneklerine hilesel işlemler uygulanabilmektedir ve bu durumun yaşanmaması adına gözetim altında idrar örneklerin toplanması gerekmektedir. Ancak gözetim altında örnek toplanması kişinin mahremiyet ihlaline neden olmaktadır. Bu nedenlerden dolayı oral sıvı, ter, saç, nefes gibi alternatif biyolojik örnekler psikoaktif maddelerin analizlerinde gittikçe ilgi görmeye başlamıştır. Ek olarak, trafikte psikoaktif madde analizi uygulamalarında ise genellikle talep edilen örnek kan olsa da alternatif matrisler, örneğin oral sıvı, daha fazla tercih edilmeye başlanmıştır. Bunun nedeni ise, kan örneğinin toplanmasının girişimsel ve tıbbi personele ihtiyaç duyulmasından kaynaklıdır.

Nefeste psikoaktif madde analizi özellikle trafikte yol kenarında ⁶⁶, idrar almanın problemlili olduğu klinik durumlarda ^{51,57}, bağımlılık tedavisi sırasındaki uyum testlerinde ^{57,67}, cezaevlerinde ⁶⁸, iş yeri testlerinde ve iş kazalarının incelenmesi gibi birçok alanda kullanılabilmektedir. Özellikle adli uygulamalar kapsamında olan trafikte psikoaktif madde analizi, alkol analizinden oldukça farklıdır. Alkol testi yerinde uygulanarak yapılmaktadır ve birçok durumda kan alkol tayinlerinin yerini almıştır. Son zamanlarda nefeste psikoaktif madde analizi de alternatif bir biyolojik örnek olarak ortaya çıkmıştır. Literatürde ilk olarak amfetaminin ekshalasyon nefesinde tespit edilebileceği gösterilmiştir⁵³. Ardından, toplanan ekshalasyon nefesinde tespit edilebilecek birçok kötüye kullanılan madde tespit edilmiştir^{54,55,58,66-70}. Bunun mümkün olmasını sağlayan altta yatan mekanizmanın, solunum süreciyle hava yolu sıvısından aerosol parçacıklarının oluşumu olduğu düşünülmektedir⁷¹. Nefes testi, idrar veya kanın herhangi bir nedenle toplanamadığı durumlarda ya da madde etkisinin altında olup olmadığının tespitinin istendiği durumlarda geçerli bir alternatif örnektir. Ayrıca, ekshalasyon nefesinde terapötik ilaçların belirlenmesine yönelik çalışmalarda literatürde yer almaktadır⁷². Çalışmamızda tasarlanan basit bir nefes toplama cihazı, mikrometre ölçeğindeki aerosol parçacıkları filtre üzerinde seçici olarak toplayarak olası psikoaktif madde kullanımının

laboratuvar incelemeleri ile tespit edilebildiğini göstermektedir. Ayrıca bu tez çalışmasında ekshalasyon nefesinde psikoaktif madde analizi için uygun, uygulamalı ve doğrulanmış bir analitik kütle spektrometresi yöntemi sunulmaktadır. Yöntemin rutin uygulamalarda kullanılabilir olduğu da elde edilen sonuçlar ile gösterilmiştir.

5.1. Metot Optimizasyonu

Metot optimizasyonunda ilk adım öncelikle kullanılacak ekstraksiyon metodunun belirlenmesidir. Bu tez kapsamında yer alan hedef analitlerin kimyasal özellikleri ve yapıları birbirlerinden oldukça farklı oldukları düşünüldüğünde, seçilecek olan ekstraksiyon metodunun tüm bu maddeleri aynı anda analiz edebilecek kapsamda olması gereklidir. Nefes toplama cihazı içerisindeki filtreler psikoaktif maddeleri tuttukları (absorbsiyon) için seçilecek çözücülerin bu maddeleri filtreden ayırması (desorbsiyon) gerekmektedir. Bu amaçla, farklı fizikokimyasal özellik yelpazesine sahip olan hedef analitleri tutabilen bir örnek hazırlama protokolünün tercih edilmesi gerekmektedir.

Tablo 9’da görüldüğü üzere 3 farklı metod ve bu metodların kendi içerisindeki yeniden çözme basamaklarının farklı çözücülerle yapılmasının %GK sonuçları yer almaktadır. Öncelikle tez kapsamındaki hedef analitleri en iyi alan ve filtre ile girişim yapmayan (Tablo 5) metanol çözücüsü tercih edilmiştir. 1. yöntemde filtreler direk metanol ile yıkanıp, azot gazı altında uçurulmadan hemen önce %10’luk formik asit eklenmiştir. Uçurulan örnekler iki farklı çözme yöntemi uygulanmıştır. 2. yöntemde ise filtrelere metanol eklendikten sonra yaklaşık 5 dk boyunca vortekslendikten sonra azot gazı altında uçurulup, aynı çözme prosedürü uygulanmıştır. 3. yöntemde de filtrelere metanol eklenerek 30 dk ultrasonikte bekletildikten sonra azot gazı altında uçurulup, yine aynı şekilde çözme prosedürü uygulanmıştır.

3 farklı metodun %GK’leri incelendiğinde, takip edilen kılavuzun önerdiği %80-120 GK aralığına sahip olan M1-M metodu seçilmiştir. Metodun %GK aralığı tüm analitler için %80.3 ile %110.3 arasında tespit edilmiş olup kılavuz ile uyumlu bulunmuştur. 2. ve 3. metodun sonuçları incelendiğinde ise filtreler metanol içerisinde ne kadar uzun süre bekletilirse psikoaktif madde tespitinin de bir o kadar düştüğü gözlemlenmiştir. Ayrıca farklı çözme prosedüründe uygulanan metanol ve metanollü amonyak sonuçlarına bakıldığında, amonyakın psikoaktif maddelerin bazılarını baskıladığı tespit edilmiştir. Özellikle M3-MA metodunda, amonyak çözeltisinin

kullanımı sonucunda maddelerin çoğunun tespit edilemediği görülmektedir. Bu nedenle, yöntem optimizasyonu sırasında amonyaklı metanol tercih edilmemiştir.

Literatüre bakıldığında, nefeste psikoaktif maddelerin analizleri sırasında en çok kullanılan ve tercih edilen çözücünün metanol olduğu görülmektedir^{51,53,68-70,73-79,54-59,66,67}. Bu tez çalışmasında da literatüre dayanarak ve nefes toplama cihazının organik çözücüler ile girişim yapmadığı çözücüler göze alınarak metanol tercih edilmiştir.

5.2. Validasyon

Seçicilik: Seçicilik çalışması sırasında metanol ve filtre matrisleri kullanılarak analizler yapılmıştır. Her bir matris için, kör örnekler ve tüm analitler eklenerek hazırlanıp test edilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda hedef analitlerin alıkonma zamanlarında matris kaynaklı bir girişimin olmadığı tespit edilmiş ve yöntemin analitler açısından seçici olduğu gösterilmiştir (Şekil 15-17). Bu sonuçlar, kullanılan yöntemin doğruluğu ve güvenilirliği açısından önemli bir kanıt sunmaktadır.

Doğrusallık: Doğrusallık çalışmalarında, her bir analit için 0.5-500 pg/filtre aralığında değişen kalibrasyon eğrileri elde edilmiştir. Tablo 10'da gösterildiği gibi, her bir analitin korelasyon katsayısı, ANSI/ASB Standard 036 kılavuzuna göre kabul edilebilir değer olan $r > 0.99$ 'u sağlamıştır. Olası matris etkisini azaltmak amacıyla, bazı kılavuzlar tarafından matris eşleşmeli kalibrasyon yapılması önerilmektedir. Bu tez çalışmasında da aynı yöntem kullanılarak kalibrasyonlar hazırlanmış ve olası matris etkisi azaltılmıştır.

LOD ve LOQ: Bu çalışma kapsamında ele alınan analitlerle nefes analizi gerçekleştiren diğer çalışmaların LOQ değerleri kıyaslanacak olursa; Stephanson ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada tüm analitler için LOQ değerleri < 6 pg/filtre olarak tespit edilmiştir⁷⁹. Stephanson ve arkadaşlarının çalışması ile ortak olan maddeler 6-MAM, AMP, BZG, COC, METHAMP, MOR ve THC maddeleri olup, LOQ değerleri sırasıyla 3.4, 5.7, 0.4, 1.8, 7.7, 0.4 ve 23.0 pg/filtre'dir (Tablo 10). İsveç'te bağımlılık merkezinde 47 kişi ile yapılan bir çalışmada⁵⁸, bakılan ortak analitlerin LOQ değerleri < 6 pg/filtredir. Diğer çalışmadan farklı olarak bu çalışma ile ortak olan bir diğer maddemiz ise buprenorfindir. Bu tez çalışmasındaki LOQ değeri 0.4 olup oldukça düşük bir LOQ

değerine ulaşıldığı gösterilmiştir. Kontrollü esrar içimi sonrası nefeste kannabinoidlerin tespiti ⁶⁶ için yapılan bir çalışmada, THC ve kannabinol (CBN) için LOQ değerleri 50 pg/filtre iken THC-COOH için 100 pg/filtre olarak tespit edilmiştir. Bu tez çalışmasında ise THC için LOQ değeri 23, THC-COOH için ise LOQ değeri 15.8 pg/filtre olarak belirlenmiştir. THC ve THC-COOH için bu çalışmanın daha düşük LOQ değerlerine sahip olduğu gösterilmiştir. Ulah ve arkadaşlarının⁷⁵ 2017 yılında 28 kişi için yaptığı bir çalışmada ortak olan BZG (1 pg/filtre), COC (3 pg/filtre), BUP (13 pg/filtre), METHAMP (9 pg/filtre), COD (17 pg/filtre), 6-MAM (8 pg/filtre), MDMA (19 pg/filtre), AMP (50 pg/filtre), MOR (50 pg/filtre) ve THC (66 pg/filtre) maddeleridir. Bu tez çalışmasının LOQ değerlerine bakıldığında MDMA (22 pg/filtre) hariç diğer tüm analitler için çok daha düşük LOQ değerlerine ulaşılmıştır. 2024 yılında, Sinapour ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, araştırılan ortak hedef analitlerin (THC hariç) LOQ değerleri 5 pg/filtre olarak tespit edilmiştir⁷⁴. THC için LOQ değeri ise 20 pg/filtre olarak çalışmada tespit edilmiştir. Bu tez çalışması incelendiğinde, THC için LOQ değerleri benzer (23 pg/filtre) bulunurken, PRGB (24.5 pg/filtre), GABAP (7.7 pg/filtre), MDA (16.3 pg/filtre), MDMA (22.6 pg/filtre), AMP (5.7 pg/filtre) ve METHAMP (7.7 pg/filtre) maddeleri için LOQ değerleri daha yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak, bu tez çalışmasından elde edilen LOQ değerleri literatürle karşılaştırıldığında, genel olarak literatürdeki çalışmalarla benzer veya daha hassas LOQ değerlerine ulaşıldığı görülmüştür. Geliştirilen yöntemin LOD ve LOQ değerlerinin, nefeste psikoaktif madde analizi ve miktar tayini yapılabilmesi için yeterli olduğu gösterilmiştir.

Doğruluk çalışması için kesinlik ve geçerlilik çalışmaları, seçilen ekstraksiyon yöntemi ile farklı konsantrasyonlarda (düşük, orta ve yüksek) kontrol örnekleri hazırlanarak yapılmıştır. **Geçerlilik** çalışmasının %GK ve %RSD sonuçları Tablo 11’de sunulmuştur. Buna göre her bir konsantrasyon için %GK sonuçları %84.5 ile % 116.7 arasında tespit edilmiştir. Sonuçlar takip edilen kılavuzun önerdiği kabul edilebilir %GK aralığı olan %80-120 ile uyumlu bulunmuştur.

Kesinlik çalışması gün içi ve günler arası tekrar edilebilirlik yönünden çalışılıp sonuçlara bakıldığında, gün içi tekrar edilebilirlik sonuçları düşük konsantrasyon (15, 50 ve 75 pg/filtre) noktaları için elde edilen %RSD değerlerinin %0.25 ile 10.85 arasında olduğu tespit edilmiştir (Tablo 12). Orta konsantrasyonlar (75 ve 250 pg/filtre) için elde

edilen %RSD değerlerinin %0.54-14.49 arasında değiştiği tespit edilmiştir (Tablo 13). Yüksek konsantrasyon (350 pg/filtre) için ise %RSD değerleri tüm analitler için %1.03-16.01 arasında tespit edilmiştir (Tablo 14). Sonuçlara bakıldığında, takip edilen kılavuza göre tüm analitler için %RSD sonuçlarının <%20 olduğu ve gün içi tekrar edilebilirlik basamağının geçerli olduğu gösterilmiştir. Günler arası tekrar edilebilirlik sonuçları incelendiğinde; düşük konsantrasyon (15, 50 ve 75 pg/filtre) noktaları için elde edilen %RSD değerlerinin %3.91-9.95 arasında olduğu (Tablo 12), orta konsantrasyonlar (75 ve 250 pg/filtre) için elde edilen %RSD değerlerinin % 1.45-11.98 arasında olduğu (Tablo 13) ve yüksek konsantrasyon (350 pg/filtre) için ise %RSD değerleri tüm analitler için % 0.76-8.38 arasında (Tablo 14) olduğu tespit edilmiştir. Günler arası tekrar edilebilirlik çalışmasında her bir konsantrasyon için tüm analitlerin %RSD değerleri <%20 olduğu ve bu nedenle günler arası tekrar edilebilirlik basamağının kabul edilebilir olduğu gösterilmiştir.

Doğruluk çalışması için yapılan kesinlik ve geçerlilik parametrelerinin sonuçları değerlendirildiğinde, geliştirilen yöntemin tüm analitler için tekrar edilebilirliği başarıyla kanıtlanmıştır.

Matris etkisi çalışmaları özellikle çok düşük noktalarda kantitasyon yapılabilmesi adına oldukça önemlidir. Matris içerisindeki farklı yapı ve bileşenler, asıl analizi yapılacak hedef analitler ile girişim yapmasına ve matris etkilerinin oluşmasına neden olmaktadır. Bu nedenle, bu tez çalışmasında özellikle ILIS kullanılarak olası matris etkisi düzeltilmiştir. Literatürde matris etkisini düzeltmek için ILIS kullanımının etkili bir araç olduğu gösterilmektedir^{80,81}. ILIS seçimi genellikle, analiz edilecek örneğin içinde bulunan hedef analit ile benzer kimyasal özelliklere sahip ancak matris içinde bulunmayan maddelerden yapılmaktadır. Bu yaklaşım, özellikle karmaşık matrislerde, matrisin analit üzerindeki etkisini düzeltme yeteneğine dayalı olarak da yapılmaktadır^{80,81}. Bu tez çalışmasında özellikle buna dikkat edilmiş ve her bir madde için olmasa da madde gruplarına ait mutlaka ILIS (n=8) kullanılmıştır. Sonuç olarak, bu tez çalışmasında analiz edilen tüm analitler için ME ILIS ile düzeltilerek verilmiştir. ME değerlendirilirken, %100 değeri matris etkisinin olmadığı durumu, %100'ün üzerindeki değerler matrisle ilişkili iyonizasyon artışını, %100'ün altındaki değerler ise matrisin iyon baskılamasını göstermektedir. Literatürde genellikle %70-130 arasındaki matris etkisi,

kabul edilebilir bir etki düzeyi olarak değerlendirilmektedir ⁶⁴. Bu bağlamda, çalışmadaki analitlerin %71.8 ile %121.8 arasında değiştiği ve %ME takip edilen kılavuza göre kabul edilebilir düzeyde tespit edilmiştir.

Stabilite: Nefeste psikoaktif madde analizinin literatürde oldukça yeni olması ve sınırlı çalışmaların bulunmasından dolayı bu basamak validasyon için oldukça önemlidir. Stabilite çalışmaları ile analitlerin hangi koşul ve sıcaklıklarda kararlı olduğu belirlenmektedir. Örneklerin toplanması ve transfer aşaması düşünüldüğünde analitlerin stabil olduğu koşulların mutlaka belirlenmesi gerekmektedir. Eğer analitler, örnek toplama ve transfer aşamasında bozunmaya uğrarsa en doğru yöntem ve en iyi analitik cihazlar kullanılsa dahi doğru sonuca ulaşamayacaktır. Bu nedenle, nefes gibi bir matriste ve çok düşük konsantrasyonlarda araştırılan psikoaktif maddelerin analizinde bu basamak oldukça kritiktir.

Bu tez çalışmasında hedeflenen tüm analitler için örneklerin toplanması ve transfer süreci düşünülerek farklı sıcaklıklar ve zamanlardaki stabiliteleri incelenmiştir. Nefes örneklerinin transfer koşulları ve analiz süresi düşünülerek, stabilite çalışması 7 günlük +24, +4 ve -20 °C'deki saklanma koşulları tasarlanarak çalışılmıştır. Çalışma sonuçları incelendiğinde, tüm sonuçlar t=0'a normalize edilip, % GK üzerinden hesaplanarak Şekil 18, 19 ve 20'de sunulmuştur.

Şekil 18'e bakıldığında uyarıcılar içerisinde olan MDEA, MDA, MDMA, AMP, METHAMP, BZG, COC, NCOC, COCE için % değişimleri farklı sıcaklıklar için 7 gün boyunca izlenmiştir. Maddelerin tümü (MDEA hariç) +4 ve -20 °C sıcaklıkları için 7 gün boyunca stabil olduğu ve yaklaşık %10'luk bir değişim gösterdiği tespit edilmiştir. Ancak +24 °C'de maddelerin çoğunun 3. ve 4. günden sonra bozunmaya uğradıkları tespit edilmiştir. Çalışmanın oda sıcaklığı olan +24 °C için uygun olmadığı, örneklerin hem transfer süreci hem de saklanma koşulları için mutlaka soğuk zincirin gerektiği stabilite çalışması ile tespit edilmiştir. MDEA maddesinin ise stabilite açısından bu çalışma için çok hızlı bozunmaya uğradığı (yaklaşık olarak %40-50) ve çalışma için uygun olmadığı tespit edilmiştir.

Şekil 19'a bakıldığında, opioidler grubundan TEB, MOR, COD, 6-MAM, AC-COD, BUP için % değişimleri farklı sıcaklıklar için 7 gün boyunca izlenmiştir. +4 °C'de 6. günden sonra tüm analitler %15'lik bir değişim gösterdiği tespit edilmiştir. +24 °C'de ise 3. günden sonra tüm analitlerde değişkenlik olup, özellikle Kodein'in 5. günde

%40'lık bozunmaya uğradığı saptanmıştır. 6-MAM ise 5. günden sonra bozunmaya başlayıp, 7. günde %50'sinin bozunduğu saptanmıştır. Analitlerin -20 °C'deki stabilitesine bakıldığında %15'lik bir dalgalanma söz konusu olsa da genel olarak 7 gün boyunca stabil kaldıkları tespit edilmiştir. Sonuç olarak opioid grubu için en ideal sıcaklığın -20 °C olduğu ve hedef analitlerin bu sıcaklıkta stabil kaldığı tespit edilmiştir.

Şekil 20 incelendiğinde, THC-OH, THC-COOH, THC, THC-A, PRGB, BABAP, MTG, XYL ve KET için % değişimleri farklı sıcaklıklar için 7 gün boyunca izlenmiştir. +4 °C sıcaklıkta genel olarak tüm analitlerin stabil olduğu, değişimlerin yaklaşık %15 seviyesinde olduğu görülmektedir. -20 °C için bakıldığında, tüm analitlerin +4 °C'ye kıyasla çok daha stabil oldukları, değişimin yaklaşık %10 civarında olduğu tespit edilmiştir. Oda sıcaklığında (+24 °C) ise analitlerin birçoğu 4. ve 5. günden sonra %40 ile 50 arasında bozunduğu ve stabil olmadıkları tespit edilmiştir.

Tüm stabilite sonuçları incelendiğinde, çalışma kapsamında araştırılan tüm analitler için en uygun sıcaklığın 7 gün boyunca -20 °C olduğu tespit edilmiştir. Özellikle oda sıcaklığında maddelerin büyük çoğunluğunun bozunduğu ve bu çalışma için uygun olmadığı görülmüştür.

Literatüre bakıldığında, Beck ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ortak olan AMP, METHAMP, MDMA, COD, 6-MAM, MOR, BZG, COC, BUP ve THC maddeleri için stabilitelerinin -20 °C'de analiz için bir ay boyunca saklanabilecekleri yönündedir⁷³. Sonuçlar, bu tez çalışmasında bulunan sıcaklık sonucu ile aynı olup, bu çalışma için yalnızca 7 güne kadar stabilite çalışması gerçekleştirilmiştir. İsveç'te yapılan kontrollü esrar içimi çalışmasından kannabinoidlerin (THC, THC-COOH ve CBN) 8 saat oda ısısında, 6 aya kadar da -20 °C'de stabil oldukları tespit edilmiştir⁶⁶. Çalışmadaki konsantrasyon değişimi <%18.2 olarak tespit edilmiştir. Bu tez çalışmasının kannabinoidler için yapılan stabilite çalışmaları ile sonuçlar uyumlu bulunmuştur. Yine İsveç'te, Arvidsson ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışmada ortak olan AMP, METHAMP, MDMA, BUP, THC, THC-COOH, COC, BZG, MOR ve 6-MAM maddeleri için -20 °C'de 3 aya kadar stabil oldukları tespit edilmiştir⁷⁶. Sinapour ve arkadaşları tarafından 2024 yılında yapılan başka bir çalışmada stabilite çalışması olarak yalnızca oda sıcaklığı çalışılmış ve ortak maddelerimiz olan AMP, METHAMP, MDA, MDMA, PRGB, GABAP, 6-MAM, MOR, COD, TEB, AC-COD, BUP, KET, THC-COOH, COC, COCE ve BZG maddeleri için 2. güne kadar (%20 değişim) stabil oldukları

tespit edilmiştir ⁷⁴. Bu tez çalışmasında ise oda sıcaklığında değişim (MDEA hariç) aynı şekilde 2. gün sonunda %20'lik bozunma saptanmıştır ve literatür ile uyumlu bulunmuştur.

5.3. Gerçek Örnek Uygulaması

Analitik bulgulara bakıldığında, nefeste psikoaktif madde tespiti bakımından bu tez çalışmasında 20 olgunun 19'u (%95) pozitif olarak tespit edilmiştir. Bu olguların demografik özellikleri incelendiğinde büyük çoğunluğunun eğitim seviyesinin ilkökul olduğu ve %85'inin erkek olduğu görülmektedir. Çalışmaya katılan kişilerin yaş ortalaması ise 32 olup, en az haftada iki kez madde kullandıklarını beyan etmişlerdir (Tablo 16).

Bu tez çalışmasının analitik verileri detaylı incelendiğinde (Tablo 17-18); BZG 2 vakada (ortalama kons. 9 pg/filtre, aralık 3.7-14.2 pg/filtre), MOR 1 vakada (35.6 pg/filtre), COD 1 vakada (62.2 pg/filtre), 6-MAM 1 vakada (38 pg/filtre), MDA 2 vakada (ortalama kons. 3.3 pg/filtre, aralık 2.6-3.9 pg/filtre), AMP 13 vakada (ortalama kons. 17 pg/filtre, aralık 3.247-46.50 pg/filtre), COC 2 vakada (ortalama kons. 12.9 pg/filtre, aralık 11.2-14.6 pg/filtre), METHAMP 18 vakada (ortalama kons. 78 pg/filtre, aralık 9.4-434 pg/filtre), MDMA 3 vakada (ortalama kons. 42.6 pg/filtre, aralık 24.2-75.6 pg/filtre), THC 1 vakada (140 pg/filtre), AC-COD 1 vakada (10.5 pg/filtre), GABAP 3 vakada (ortalama kons. 19.5 pg/filtre, aralık 7.8-27 pg/filtre), PRGB 6 vakada (ortalama kons. 84.5 pg/filtre, aralık 15.7-129 pg/filtre), THC-A 4 vakada (ortalama kons. 84.5 pg/filtre, aralık 22.5-175 pg/filtre) nefes örneğinde tespit edilmiştir. Stephanson ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 1096 örneğin 39 tanesi nefeste pozitif bulunmuş ve pozitiflik sonuçları; AMP 25 vakada (ortalama kons. 43 pg/filtre, aralık 20-5667 pg/filtre), METHAMP 10 vakada (ortalama kons. 26 pg/filtre, aralık 18-73 pg/filtre), THC 8 vakada (ortalama kons. 44 pg/filtre, aralık 27-557 pg/filtre), COC 4 vakada (ortalama kons. 126 pg/filtre, aralık 50-345 pg/filtre), BZG 2 vakada (aralık 23-35 pg/filtre) ve diazepam (2 vakada, aralık 48-117 pg/filtre) tespit edilmiştir ⁷⁹. Sonuçlar kıyaslandığında bu tez çalışmasında 14 farklı psikoaktif madde nefeste pozitif bulunurken, Stephanson ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 6 farklı psikoaktif madde pozitif bulunmuştur.

Bu tez çalışmasında, kan, idrar ve nefes örneklerinde tespit edilen hedef analitlerin karşılaştırıldığı ilgili sonuçlar Tablo 18'de sunulmuştur. Sonuçlar incelendiğinde, en sık

tespit edilen maddelerden biri olan AMP'ler için kan örneklerinde pozitif vakaların sayısı 15 olarak saptanmıştır. Bu vakaların nefes örneğindeki pozitiflik sayısı ise 12 olarak tespit edilmiştir. Ancak, AMP 2 vakada nefes örneğinde pozitif bulunmasına rağmen kan örneklerinde negatif, idrar örneklerinin ise yalnızca 1 tanesinde pozitif tespit edilmiştir. İdrar örneklerindeki AMP pozitifliği ile kan örneklerinin pozitifliği ise aynıdır. Yalnızca 1 adet idrar örneğinde AMP pozitifliği mevcut iken, kan ve nefes örneklerinde AMP negatif olarak tespit edilmiştir. Kan-idrar AMP pozitifliği mevcut olup, nefes örneğinde AMP tespit edilememesinin sebebi (2 vakada), nefes örneğinde psikoaktif maddeleri tespit etme süresinin diğer örneklere kıyasla daha kısa olmasından kaynaklı olmasıdır ⁵¹. 2024 yılında, Sinapour ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada da en sık tespit edilen maddenin AMP olduğu ve bir vakada idrardaki AMP pozitifliğine rağmen nefeste tespit edilemediği görülmektedir ⁷⁴.

METHAMP sonuçları incelendiğinde, kan örneklerindeki pozitiflik sayısı 16 olup, bu vakaların tümü nefes örneğinde de pozitif olarak tespit edilmiştir. Ayrıca, 2 vakanın nefes örneğinde METHAMP pozitif bulunmasına rağmen, bu vakaların kan örnekleri negatif, idrar örnekleri ise pozitif olarak tespit edilmiştir. Bunun nedeni, kandaki tespit limitinin nefes örneğine göre daha yüksek olmasından kaynaklı olabilmektedir. İdrar örneklerindeki METHAMP pozitifliğine bakıldığında yalnızca 13 vakada pozitif olarak tespit edilmiştir. Kan ve nefes örneği pozitif olup, idrar örneği negatif olan 6 vaka saptanmıştır. Bu sonuçlar, madde kullanımının yeni olduğunu ve henüz idrara METHAMP geçişinin olmadığını göstermektedir. Ayrıca, kişinin madde etkisi altında olduğunu göstermesi açısından da oldukça kıymetlidir.

MDMA sonuçları incelendiğinde, kan örneklerinde pozitiflik sayısı 3 olarak tespit edilmiştir ve bu vakaların tümü nefes örneğinde de pozitif olarak saptanmıştır. İdrar örneklerinde ise pozitiflik sayısı 6 iken, bunların 3 tanesi için kan ve nefes örnekleri negatif olarak tespit edilmiştir. Bu durum bu 3 vaka için MDMA kullanımının daha önce olduğunu, kan ve nefes örneklerinde bu nedenle saptanamadığını bize göstermektedir. Kısacası, bu 3 vaka için idrar örneğindeki MDMA pozitifliği, kan ve nefes örneğinde saptanamamasından dolayı, kişilerin aslında madde etkisi altında olmadıklarını ancak madde kullanımının daha önce olduğunu göstermektedir.

Gabapentanoitlerin sonuçları incelendiğinde, GABAP için kan örneğindeki pozitiflik sayısı 4 iken, bu vakaların 3 tanesi nefes örneğinde de pozitif olarak

saptanmıştır. İdrar örneğinde ise yalnızca 1 adet pozitiflik saptanmıştır. Bu durum idrardaki cutoff (eşik değeri) değerlerinin yüksek olmasına ya da kişilerin maddeleri yeni kullanmasına bağlı olarak idrar örneklerinde pozitif bulunamamış olabilir. PRGB'nin ise kan örneklerindeki pozitiflik sayısı 6 iken, bunların 3 tanesi nefes örneğinde pozitif olarak tespit edilmiştir. Ancak nefes örneğinde pozitif olarak tespit edilen 3 vakanın kan örnekleri negatif olup, yalnızca 1 tanesinin idrar örneği pozitif olarak tespit edilmiştir. Bu tez çalışmasında bu maddelere özellikle yer verilmiştir. Çünkü son dönemlerde gabapentoidlerin kötüye kullanımı gittikçe artan bir problem haline gelmeye başlamıştır ⁸². Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara incelendiğinde, nefes örneğinde gabapentoidlerin tespit edilebildikleri görülmektedir.

Esrar pozitifliği incelendiğinde, kan örneğinde 4 vakada THC-COOH pozitif olarak saptanırken, idrar örneğinde 5 vakada pozitif olarak saptanmıştır. Ancak, THC-COOH nefes örneklerinde tespit edilememiştir. Bu sonuç literatür ile uyumlu bulunmuştur. Literatürde yapılan çalışmalara bakıldığında, nefes örneğinde THC-COOH metabolitinin tespit edilemediği, THC veya diğer metabolitlerinin tespit edilebildiği yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir ^{66,83}. Sinapour ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, 9 vakanın idrar örneğinde THC-COOH tespit edilirken, bu vakaların sadece birinin nefes örneğinde THC tespit edilmiştir ⁷⁴. Bu tez çalışmasında da nefes örneğinde yalnızca 1 vakada THC pozitif olarak tespit edilirken, 4 vakada THC-A pozitif olarak tespit edilmiştir. Bu vakaların tümünün ya kan örnekleri ya da idrar örnekleri THC-COOH pozitif olarak tespit edilmiştir. Literatürdeki bir klinik çalışma, THC için kan ve nefes analizlerinin sonuçlarını karşılaştırmış ve nefes testi pozitif olan kişilerin istatistiksel olarak önemli bir kısmının kan konsantrasyonları daha yüksek saptanmıştır ⁵¹. Üç kontrollü esrar içme çalışmasında, THC'nin nefeste tespit süresinin kısa olduğu ve tespit süresi 2-3 saat içerisinde olduğu gösterilmiştir ^{66,77,84}. Kronik esrar kullanıcılarının kullanımdan bir hafta sonra dahi kanlarında yaklaşık 1 ng/mL düzeyinde THC konsantrasyonuna sahip oldukları çalışmalarda bildirilmiştir ⁸⁵, ancak bu konsantrasyonlara ara sıra kullanan kişilerde de ulaşılabilir ⁸⁶. Bu nedenle, pozitif bir nefes testi, pozitif bir kan testinden daha çok yakın zamanda içilen, madde etkisinde olma durumuyla daha güçlü bir şekilde ilişkilendirilebilmektedir. Nefes örneğinin bir diğer avantajı, sahada doğrudan alındığında sonuçların yorumlanması ve tespit oranlarını etkileyebilecek zaman gecikmesinin olmamasıdır ⁸⁶. Ağız sıvısının yerinde analizi için tespit süresi, içmeden

sonra 2-3 saat ⁸⁷ ve daha duyarlı laboratuvar analizi ile <12 saat olarak rapor edilmiştir, solunan nefeste tespit süresinin de ağız sıvısındaki tespit süresine benzer olduğunu belirtmiştir ^{84,88}.

Tez kapsamında toplanan 20 kişinin nefes, kan ve idrar örneklerinde çalışılan hedef analitler içerisinde en çok pozitiflik veren maddeler AMP ve METHAMP olarak saptanmıştır (Tablo 17). Bu maddelerin özellikle kan ve nefes örneklerindeki tespit edilen konsantrasyonlarının olgulara göre dağılımları ise Şekil 21 ve 22’de sunulmuştur. Şekil 21 incelendiğinde, nefes örneğindeki konsantrasyonların kana göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu durum anket sonuçlarında da tespit edildiği üzere maddenin kullanım şekli olan inhalasyon mekanizması ile açıklanabilmektedir. İnhalasyon ile kullanım sonrası nefeste daha yüksek METHAMP konsantrasyonları tespit edilirken, kana geçiş mekanizması daha yavaş olduğu için kanda nefes örneğine göre daha düşük konsantrasyonlarda tespit edilmiştir. Ancak Şekil 22’deki AMP sonuçlarına bakıldığında durum daha karmaşıktır. Nefes ve kan örneklerindeki AMP konsantrasyonlarının değişkenlik gösterdiği saptanmıştır. Özellikle 2. olguda AMP konsantrasyonu nefeste yüksek tespit edilirken, 12. olguda tam tersi tespit edilmiştir. Bunun sebebi ise, AMP kullanım şeklinin anket sonuçlarının da gösterdiği üzere genellikle oral yolla olup, bu nedenle kandaki konsantrasyonlar daha yüksek tespit edilmiştir. Ayrıca kişinin maddeyi ne zaman kullandığı da bu durumu etkileyen faktörlerden biridir. AMP kullanımından hemen sonra alınan nefes ve kan örneklerinde kanda daha yüksek konsantrasyonlar beklenirken, daha geç örnek alımında kandaki miktarın azalmaya başlayacağından durum değişebilmektedir. Şekil 22’de tespit edilen konsantrasyon grafiği de tüm bu olası durumları açıklamaktadır.

Bu tez çalışmasının tüm bulguları değerlendirildiğinde, psikoaktif madde tespitinde kullanılan nefes toplama cihazının başarıyla geliştirilmiş ve doğrulanmış olduğu görülmektedir. Avrupa İş Yeri Madde Testi Derneği (EWDTS)⁸⁹ tarafından önerilen rehberde nefes örneğindeki hedef analitlerin raporlama limiti, 0.4 pg/L olarak belirlenmiştir. Bu tez çalışmasında ise bu raporlama limiti her maddenin LOQ değeri olarak kabul edilmiştir. Ayrıca nefes toplama cihazı iki kolektör arasında bölünmüş yaklaşık olarak 25-30 L hava tuttuğundan, raporlama limiti olarak LOQ değerleri ikiye bölünerek belirlenmiştir.

Sonuç olarak, bu çalışma, nefes örneklerinden psikoaktif madde analiz için geliştirilen nefes toplama cihazının kullanılabilir olduğunu göstermektedir. Sonuçlar, nefeste psikoaktif maddelerin tespit edilebilirliğini ve madde alımdan sonra tespit süresini sağlamak için yüksek analitik hassasiyetin gerektiğini göstermektedir. Bu tez çalışmasında, nefes örneğinin psikoaktif madde analizinde başarılı bir şekilde uygulanabilmesinin önemli bir unsuru olarak LC-MS/MS teknolojisinin sağladığı duyarlılık ve seçicilik olduğu gösterilmiştir.



6. ÇALIŞMANIN KISITLILIKLARI

Nefes testinin daha kısa bir tespit penceresine (saat/gün) sahip olduğu göz önüne alındığında, bazı vakalarda tespit edilen psikoaktif maddelerin düşük konsantrasyonlarda oluşu veya tespit edilememesi bu durum ile açıklanabilmektedir. Ayrıca, bireyler arası fizyolojik farklılıklar ve nefes alma manevrasındaki farklılıklar, nefes örneğinde psikoaktif maddelerin tespitinde değişikliklere neden olabilmektedir^{90,91}. Psikoaktif madde analizlerinde biyolojik örneklerin seçiminde; örnekleme kolaylığı, tespit süresi, maliyet ve diğer faktörler göz önünde bulundurulmalıdır. İdrar örneği, psikoaktif madde analizinde iyi gelişmiş metodoloji ve deneyim ile hala altın standart olarak kabul edilmektedir. Nefes testinin sınırlılıkları arasında ise deneyimli bir ekip ile son derece duyarlı analitik ekipmanlara ihtiyaç duyulmasıdır. Uzun yıllar boyunca, kan örneği, trafikte psikoaktif maddelerin tespiti için altın standart olmuştur. Ancak, psikoaktif maddelerin etkisi altında araç kullanma olaylarında, bazı ülkeler hem tarama hem de teyit örneği olarak ağız içi sıvısı kullanmaya başlamışlardır. Kan örneklerinin yol kenarında toplanması, profesyonel personel ve uygun tesisler gerektirir ki bu da oldukça maliyetli ve zaman alıcıdır. Nefes örneğinin trafikte madde etkisi altında araç kullananların tespitinde kullanılabileceği hem bu tez çalışması hem de literatürde yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir. Nefes örneğinin toplanma prosedürünün kolaylığı, yerinde toplanma imkânı ve tıbbi profesyonellere ihtiyaç duymadan uygun örnekleme prosedürü büyük avantaj sunmaktadır. Bu durum maliyet tasarrufu ve daha fazla kişiden örnek toplama imkânı sağlamaktadır.

7. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Bu tez çalışması, nefes örneklerinden psikoaktif madde tespiti için nefes örneğinin kullanıldığı Türkiye'deki ilk çalışmadır. Çalışma, psikoaktif madde analizinde nefes örneğinin gelecekte çeşitli alanlarda kullanım potansiyeli olduğunu göstermektedir.
- Bu tez çalışmasında, Manisa ili bağımlılık tedavi merkezinden toplanan 20 adet nefes örneğinin 19'unda (%95) psikoaktif madde pozitif bulunmuştur.
- Bu tez çalışmasında, kişilerden aynı anda nefes, kan ve idrar örnekleri toplanmıştır. Bazı kişilerin kan örneği vermek istemeyip (iki vaka) nefes ve idrar örneğini kolayca verdikleri gözlemlenmiştir. Bu durum özellikle iş yeri, doping, trafik, cezaevleri gibi alanlarda nefes örneği toplamanın çok daha kolay ve mümkün olduğunu göstermektedir.
- Türkiye'de trafikte pilot çalışma olarak yapılmaya başlayan ağız içi sıvısında psikoaktif madde analizi çalışmaları ile kıyaslandığında nefes testinin diğer bir avantajı ise ağız kuruluğu problemi nedeniyle örnekleme işleminin yapılmasının önüne geçmesidir. Ayrıca, psikoaktif madde analizlerinde sıklıkla karşılaşılan hileli işlemler (adulterasyon) göz önüne alındığında, nefes örneğinin örnekleme prosedürü, sadece örnek verenler için daha uygun değil, aynı zamanda örnek toplayanlar için de daha kolay ve kontrol edilebilir bir prosedür olduğunu sunmaktadır.
- Gelecekte, bu tez çalışmanın sonuçlarının da gösterdiği gibi, yeni bir tespit teknolojisi olarak nefes toplama cihazının kullanımı ve sonuçlarının yasal olarak kabul edilmesi gerekecektir.
- Sonuç olarak, bu çalışmanın umut verici sonuçları, nefesin psikoaktif madde kullanımıyla ilgili trafikte sürücü testleri için uygun bir örnek olduğunu göstermektedir. Bu çalışmanın ileride daha kapsamlı kan analizleri ile nefes örnekleme yönteminin sahada psikoaktif madde tespiti için değerlendirilmesi gerektiğini göstermektedir. Hızlı, kolay ve pratik örnekleme prosedürü, sahada psikoaktif madde testi için nefes örneklerinin kullanılabilirliğini sunmaktadır.

KAYNAKLAR

1. **Gökler R, Koçak R.** Uyuşturucu ve Madde Bağımlılığı. *Gaziosmanpaşa Univ Sos Bilim Arastirmalari Derg.* **2008**; 03:89-104. <<https://doi.org/10.19129/sbad.119>>.
2. **Jickells S, Negrusz A.** Clarke's analytical forensic toxicology. Levine BS, KERRIGAN S, eds. *Ann Toxicol Anal.* **2008**; 20:672. <<https://doi.org/10.1051/ata/2009023>>.
3. **Rock EM, Parker LA.** Constituents of Cannabis Sativa. In: *Cannabinoids and Neuropsychiatric Disorders*. Vol 1264. 2021, pp 1-13.
4. **Levine BS, KERRIGAN S, eds.** Principles of Forensic Toxicology. Vol 26. Cham, Switzerland, Springer International Publishing, 2020.
5. **Pisanti S, Bifulco M.** Modern History of Medical Cannabis: From Widespread Use to Prohibitionism and Back. *Trends Pharmacol Sci.* **2017**; 38:195-198. <<https://doi.org/10.1016/j.tips.2016.12.002>>.
6. **Bridgeman MB, Abazia DT.** Medicinal Cannabis: History, Pharmacology, And Implications for the Acute Care Setting. *P T.* **2017**; 42:180-188.
7. **Crocq MA.** History of cannabis and the endocannabinoid system. *Dialogues Clin Neurosci.* **2020**; 22:223-228. <<https://doi.org/10.31887/DCNS.2020.22.3/MCROCQ>>.
8. **Pertwee R.** Receptors and Channels Targeted by Synthetic Cannabinoid Receptor Agonists and Antagonists. *Curr Med Chem.* **2010**; 17:1360-1381. <<https://doi.org/10.2174/092986710790980050>>.
9. **Hall W.** The Health and Psychological Effects of Cannabis Use. *Curr Issues Crim Justice.* **1994**; 6:208-220. <<https://doi.org/10.1080/10345329.1994.12036647>>.
10. **Ashton CH.** Pharmacology and effects of cannabis: A brief review. *Br J Psychiatry.* **2001**; 178:101-106. <<https://doi.org/10.1192/bjp.178.2.101>>.
11. **Grotenhermen F.** Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Cannabinoids. Vol 42., 2003.
12. **Aks SE.** Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Abused Drugs. Vol 47. (Karch, MD, FFFLM SB, ed.). CRC Press, 2007.
13. **Musto DF.** The Marihuana Tax Act of 1937. *Arch Gen Psychiatry.* **1972**; 26:101. <<https://doi.org/10.1001/archpsyc.1972.01750200005002>>.
14. **Giancaspro GI, Kim N-C, Venema J, de Mars S, Devine J, Celestino C, Feaster CE, Firschein BA, Waddell MS, Gardner SM, Jones EJ.** The Advisability and Feasibility of Developing USP Standards for Medical Cannabis. *Pharmacoepial Forum.* **2016**; 42:1-8.
15. **Bostancı Demirci H, Acar S, Akgür SA.** Kannabis Yasal, Ya Sonra.... *Bull Leg Med.* **2020**; 25:51-58. <<https://doi.org/10.17986/blm.2020.v25i1.1366>>.
16. **Heal DJ, Smith SL, Gosden J, Nutt DJ.** Amphetamine, past and present – a pharmacological and clinical perspective. *J Psychopharmacol.* **2013**; 27:479-496. <<https://doi.org/10.1177/0269881113482532>>.
17. **Vearrier D, Greenberg MI, Miller SN, Okaneku JT, Haggerty DA.** Methamphetamine:

History, Pathophysiology, Adverse Health Effects, Current Trends, and Hazards Associated with the Clandestine Manufacture of Methamphetamine. *Disease-a-Month*. **2012**; 58:38-89. <<https://doi.org/10.1016/j.disamonth.2011.09.004>>.

18. **Kelly JP.** Cathinone derivatives: A review of their chemistry, pharmacology and toxicology. *Drug Test Anal*. **2011**; 3:439-453. <<https://doi.org/10.1002/dta.313>>.
19. **Luethi D, Liechti ME.** Designer drugs: mechanism of action and adverse effects. *Arch Toxicol*. **2020**; 94:1085-1133. <<https://doi.org/10.1007/s00204-020-02693-7>>.
20. **Stolberg VB.** The Use of Coca: Prehistory, History, and Ethnography. *J Ethn Subst Abuse*. **2011**; 10:126-146. <<https://doi.org/10.1080/15332640.2011.573310>>.
21. **Freye E.** Pharmacology and Abuse of Cocaine, Amphetamines, Ecstasy and Related Designer Drugs. Dordrecht, Springer Netherlands, 2010.
22. **Markel H.** Über Coca: Sigmund Freud, Carl Koller, and Cocaine. *JAMA*. **2011**; 305:1360. <<https://doi.org/10.1001/jama.2011.394>>.
23. **Koller C.** ON THE USE OF COCAINE FOR PRODUCING ANÆSTHESIA ON THE EYE. *Lancet*. **1884**; 124:990-992. <[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)28859-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)28859-5)>.
24. **Akgür SA, ed.** Yasal & Yasadışı Maddeler ve Adli Toksikolojik Yaklaşımlar. Akademisyen Kitabevi, 2021.
25. **Kayaalp O.** Opioid Analjezikler. In: Kayaalp O, ed. Akılcıl Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Pelikan Yayıncılık Ltd. Şti., 2012, pp 826-845.
26. **McGinty L.** Opioids. In: Abd-Elseyed A, ed. Basic Anesthesia Review. Oxford University Press New York, 2024, pp 381-383.
27. **Jamison RN, Mao J.** Opioid Analgesics. *Mayo Clin Proc*. **2015**; 90:957-968. <<https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2015.04.010>>.
28. **Vree T, Van Dongen R, Koopman-Kimenai P.** CODEINE ANALGESIA IS DUE TO CODEINE-6-GLUCURONIDE, NOT MORPHINE. *Int J Clin Pract*. **2000**; 54:395-398. <<https://doi.org/10.1111/j.1742-1241.2000.tb11929.x>>.
29. **Katzung BG, Kruidering-Hall M, Trevor AJ.** Opioid Analgesics & Antagonists. In: Katzung & Trevor's Pharmacology: Examination & Board Review, 12e. New York, NY, McGraw-Hill Education, 2019.
30. **Orman JS, Keating GM.** Spotlight on Buprenorphine/Naloxone in the Treatment of Opioid Dependence†. *CNS Drugs*. **2009**; 23:899-902. <<https://doi.org/10.2165/11203740-000000000-00000>>.
31. **Garcia-Romeu A, Kersgaard B, Addy PH.** Clinical applications of hallucinogens: A review. *Exp Clin Psychopharmacol*. **2016**; 24:229-268. <<https://doi.org/10.1037/pha0000084>>.
32. **Nichols DE.** Hallucinogens. *Pharmacol Ther*. **2004**; 101:131-181. <<https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2003.11.002>>.
33. **Calandre EP, Rico-Villademoros F, Slim M.** Alpha 2 delta ligands, gabapentin, pregabalin and mirogabalin: a review of their clinical pharmacology and therapeutic use. *Expert Rev Neurother*. **2016**; 16:1263-1277. <<https://doi.org/10.1080/14737175.2016.1202764>>.

34. **David Wesche, Raymond Miller, Sunny Chapel, Nancy Janiczek, Paula Burger.** A Comparison of the Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Pregabalin and Gabapentin. **2012**; 49:661-669.
35. **Evoy KE, Morrison MD, Saklad SR.** Abuse and Misuse of Pregabalin and Gabapentin. *Drugs*. **2017**; 77:403-426. <<https://doi.org/10.1007/s40265-017-0700-x>>.
36. **Smith BH, Higgins C, Baldacchino A, Kidd B, Bannister J.** Substance misuse of gabapentin. *Br J Gen Pract*. **2012**; 62:406-407. <<https://doi.org/10.3399/bjgp12X653516>>.
37. **Bonnet U, Scherbaum N.** How addictive are gabapentin and pregabalin? A systematic review. *Eur Neuropsychopharmacol*. **2017**; 27:1185-1215. <<https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2017.08.430>>.
38. **Ünver Y.** Maddeler ile İlgili Yasal Düzenlemeler. In: Akgür SA, ed. Yasal & Yasadışı Maddeler ve Adli Toksikolojik Yaklaşımlar. Akademisyen Kitabevi, 2021, pp 41-62.
39. **TUBİM.** 2023 Türkiye Uyuşturucu Raporu Eğilimler ve Gelişmeler., 2023.
40. **Dengiz H, Kacargil CU, Dağhoğlu N.** Yasa Dışı Maddeler ve Yasal Düzenlemeler. In: Adli Kimya. 2022, pp 69-99.
41. **Meclis Araştırması Komisyonu (MAK).** Uyuşturucu Madde Bağımlılığı ve Yeni Bağımlılık Türlerinin Araştırılarak Bağımlılığın Nedenlerinin ve Alınacak Tedbirlerin Tespit Edilmesi Maksudıyla Kurulan MECLİS ARAŞTIRMASI KOMİSYONU RAPORU. Vol 558. Ankara, 2018.
42. **Griffiths JL.** AN INVESTIGATION OF THE USE OF ALTERNATIVE MATRICES IN CLINICAL AND FORENSIC TOXICOLOGY. **2012**.
43. **Gjerde H, Øiestad EL, Christophersen AS.** Using biological samples in epidemiological research on drugs of abuse. *Nor Epidemiol*. **2011**; 21:5-14. <<https://doi.org/10.5324/nje.v21i1.1420>>.
44. **Chace DH, DiPerna JC, Mitchell BL, Sgroi B, Hofman LF, Naylor EW.** Electrospray Tandem Mass Spectrometry for Analysis of Acylcarnitines in Dried Postmortem Blood Specimens Collected at Autopsy from Infants with Unexplained Cause of Death. *Clin Chem*. **2001**; 47:1166-1182. <<https://doi.org/10.1093/clinchem/47.7.1166>>.
45. **Mali N, Karpe M, Kadam V.** A review on biological matrices and analytical methods used for determination of drug of abuse. *J Appl Pharm Sci*. **2011**; 1:58-65.
46. **de Campos EG, da Costa BRB, dos Santos FS, Monedeiro F, Alves MNR, Santos Junior WJR, De Martinis BS.** Alternative matrices in forensic toxicology: a critical review. *Forensic Toxicol*. **2022**; 40:1-18. <<https://doi.org/10.1007/s11419-021-00596-5>>.
47. **Kintz P, Villain M, Cirimele V.** Hair Analysis for Drug Detection. *Ther Drug Monit*. **2006**; 28:442-446. <<https://doi.org/10.1097/01.ftd.0000211811.27558.b5>>.
48. **Stout PR.** Hair Testing for Drugs - Challenges for Interpretation. *Forensic Sci Rev*. **2007**; 19:69-84.
49. **Uemura N, Nath RP, Harkey MR, Henderson GL, Mendelson J, Jones RT.** Cocaine Levels in Sweat Collection Patches Vary by Location of Patch Placement and Decline Over Time*. *J Anal Toxicol*. **2004**; 28:253-259. <<https://doi.org/10.1093/jat/28.4.253>>.

50. **Dinis-Oliveira RJ, Carvalho F, Duarte JA, Remião F, Marques A, Santos A, Magalhães T.** Collection of biological samples in forensic toxicology. *Toxicol Mech Methods*. **2010**; 20:363-414. <<https://doi.org/10.3109/15376516.2010.497976>>.
51. **Skoglund C, Hermansson U, Beck O.** Clinical trial of a new technique for drugs of abuse testing: A new possible sampling technique. *J Subst Abuse Treat*. **2015**; 48:132-136. <<https://doi.org/10.1016/j.jsat.2014.09.003>>.
52. **Bredberg A, Gobom J, Almstrand A-C, Larsson P, Blennow K, Olin A-C, Mirgorodskaya E.** Exhaled Endogenous Particles Contain Lung Proteins. *Clin Chem*. **2012**; 58:431-440. <<https://doi.org/10.1373/clinchem.2011.169235>>.
53. **Beck O, Leine K, Palmskog G, Franck J.** Amphetamines Detected in Exhaled Breath from Drug Addicts: A New Possible Method for Drugs-of-Abuse Testing. *J Anal Toxicol*. **2010**; 34:233-237. <<https://doi.org/10.1093/jat/34.5.233>>.
54. **Beck O, Sandqvist S, Eriksen P, Franck J, Palmskog G.** Method for determination of methadone in exhaled breath collected from subjects undergoing methadone maintenance treatment. *J Chromatogr B*. **2010**; 878:2255-2259. <<https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2010.06.035>>.
55. **Beck O, Sandqvist S, Eriksen P, Franck J, Palmskog G.** Determination of Methadone in Exhaled Breath Condensate by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *J Anal Toxicol*. **2011**; 35:129-133. <<https://doi.org/10.1093/anatox/35.3.129>>.
56. **Beck O, Sandqvist S, Dubbelboer I, Franck J.** Detection of 9-Tetrahydrocannabinol in Exhaled Breath Collected from Cannabis Users. *J Anal Toxicol*. **2011**; 35:541-544. <<https://doi.org/10.1093/anatox/35.8.541>>.
57. **Carlsson S, Olsson R, Lindkvist I, Beck O.** Application of drug testing using exhaled breath for compliance monitoring of drug addicts in treatment. *Scand J Clin Lab Invest*. **2015**; 75:156-161. <<https://doi.org/10.3109/00365513.2014.993336>>.
58. **Beck O, Stephanson N, Sandqvist S, Franck J.** Detection of drugs of abuse in exhaled breath using a device for rapid collection: comparison with plasma, urine and self-reporting in 47 drug users. *J Breath Res*. **2013**; 7:026006. <<https://doi.org/10.1088/1752-7155/7/2/026006>>.
59. **Seferaj S, Ullah S, Tinglev Å, Carlsson S, Winberg J, Stambeck P, Beck O.** Evaluation of a new simple collection device for sampling of microparticles in exhaled breath. *J Breath Res*. **2018**; 12:036005. <<https://doi.org/10.1088/1752-7163/aaaf24>>.
60. **Coskun O.** Separation Techniques: CHROMATOGRAPHY. *North Clin Istanbul*. **2016**; 3:156-160. <<https://doi.org/10.14744/nci.2016.32757>>.
61. **Skoog DA., West DM, Holler FJ., Crouch SR.** Fundamentals of Analytical Chemistry. *Brooks/Cole*. **2014**; 9:1-1088.
62. **Niessen WM.** Liquid chromatography-mass spectrometry. Cazes J, ed. *J Chromatogr A*. **1995**; 703:37-57. <[https://doi.org/10.1016/0021-9673\(94\)01198-N](https://doi.org/10.1016/0021-9673(94)01198-N)>.
63. **Kazakevich Y, LoBrutto R.** Frontmatter. In: *HPLC for Pharmaceutical Scientists*. Wiley, 2007, pp 8-9.
64. **ANSI/ASB Standard 036.** Standard Practices for Method Validation in Forensic

Toxicology. 2019.

65. **Scientific Working Group for Forensic Toxicology (SWGTOX).** Scientific Working Group for Forensic Toxicology (SWGTOX) Standard Practices for Method Validation in Forensic Toxicology. *J Anal Toxicol.* **2013**; 37:452-474. <<https://doi.org/10.1093/jat/bkt054>>.
66. **Himes SK, Scheidweiler KB, Beck O, Gorelick DA, Desrosiers NA, Huestis MA.** Cannabinoids in Exhaled Breath following Controlled Administration of Smoked Cannabis. *Clin Chem.* **2013**; 59:1780-1789. <<https://doi.org/10.1373/clinchem.2013.207407>>.
67. **Beck O, Stephanson N, Sandqvist S, Franck J.** Determination of Amphetamine and Methylphenidate in Exhaled Breath of Patients Undergoing Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder Treatment. *Ther Drug Monit.* **2014**; 36:528-534. <<https://doi.org/10.1097/FTD.0000000000000046>>.
68. **Beck O.** Exhaled breath for drugs of abuse testing — Evaluation in criminal justice settings. *Sci Justice.* **2014**; 54:57-60. <<https://doi.org/10.1016/j.scijus.2013.09.007>>.
69. **Beck O, Sandqvist S, Franck J.** Demonstration that methadone is being present in the exhaled breath aerosol fraction. *J Pharm Biomed Anal.* **2011**; 56:1024-1028. <<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2011.08.004>>.
70. **Ellefson KN, Concheiro M, Beck O, Gorelick DA, Pirard S, Huestis MA.** Quantification of cocaine and metabolites in exhaled breath by liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry following controlled administration of intravenous cocaine. *Anal Bioanal Chem.* **2014**; 406:6213-6223. <<https://doi.org/10.1007/s00216-014-8051-x>>.
71. **Almstrand A-C, Bake B, Ljungström E, Larsson P, Bredberg A, Mirgorodskaya E, Olin A-C.** Effect of airway opening on production of exhaled particles. *J Appl Physiol.* **2010**; 108:584-588. <<https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00873.2009>>.
72. **Berchtold C, Bosilkovska M, Daali Y, Walder B, Zenobi R.** Real-time monitoring of exhaled drugs by mass spectrometry. *Mass Spectrom Rev.* **2014**; 33:394-413. <<https://doi.org/10.1002/mas.21393>>.
73. **Beck O, Stephanson N, Sandqvist S, Franck J.** Detection of Drugs of Abuse in Exhaled Breath from Users Following Recovery from Intoxication. *J Anal Toxicol.* **2012**; 36:638-646. <<https://doi.org/10.1093/jat/bks079>>.
74. **Sinapour H, Guterstam J, Grosse S, Astorga-Wells J, Stambeck P, Stambeck M, Winberg J, Hermansson S, Beck O.** Validation and application of an automated multitarget LC-MS/MS method for drugs of abuse testing using exhaled breath as specimen. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci.* **2024**; 1240:124142. <<https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2024.124142>>.
75. **Ullah S, Sandqvist S, Beck O.** A liquid chromatography and tandem mass spectrometry method to determine 28 non-volatile drugs of abuse in exhaled breath. *J Pharm Biomed Anal.* **2018**; 148:251-258. <<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.10.003>>.
76. **Arvidsson M, Ullah S, Franck J, Dahl M, Beck O.** Drug abuse screening with exhaled breath and oral fluid in adults with substance use disorder. *Drug Test Anal.* **2019**; 11:27-32. <<https://doi.org/10.1002/dta.2384>>.
77. **Coucke L, Massarini E, Ostijn Z, Beck O, Verstraete AG.** Δ^9 -Tetrahydrocannabinol concentrations in exhaled breath and physiological effects following cannabis intake – A pilot study using illicit cannabis. *Clin Biochem.* **2016**; 49:1072-1077.

<<https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2016.06.003>>.

78. **Beck O, Ullah S, Kronstrand R.** First evaluation of the possibility of testing for drugged driving using exhaled breath sampling. *Traffic Inj Prev.* **2019**; 20:238-243. <<https://doi.org/10.1080/15389588.2019.1584397>>.
79. **Stephanson N, Sandqvist S, Lambert MS, Beck O.** Method validation and application of a liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for drugs of abuse testing in exhaled breath. *J Chromatogr B.* **2015**; 985:189-196. <<https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2015.01.032>>.
80. **De Nicolò A, Cantù M, D'Avolio A.** Matrix effect management in liquid chromatography mass spectrometry: The internal standard normalized matrix effect. *Bioanalysis.* **2017**; 9:1093-1105. <<https://doi.org/10.4155/bio-2017-0059>>.
81. **Hewavitharana AK.** Matrix matching in liquid chromatography-mass spectrometry with stable isotope labelled internal standards-Is it necessary? *J Chromatogr A.* **2011**; 1218:359-361. <<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.11.047>>.
82. **Hägg S, Jönsson AK, Ahlner J.** Current Evidence on Abuse and Misuse of Gabapentinoids. *Drug Saf.* **2020**; 43:1235-1254. <<https://doi.org/10.1007/s40264-020-00985-6>>.
83. **Ramzy V, Priefer R.** THC detection in the breath. *Talanta.* **2021**; 222:121528. <<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121528>>.
84. **Kintz P, Mura P, Jamey C, Raul J-S.** Detection of Δ^9 -tetrahydrocannabinol in exhaled breath after cannabis smoking and comparison with oral fluid. *Forensic Toxicol.* **2017**; 35:173-178. <<https://doi.org/10.1007/s11419-016-0333-x>>.
85. **Bosker WM, Karschner EL, Lee D, Goodwin RS, Hirvonen J, Innis RB, Theunissen EL, Kuypers KPC, Huestis MA, Ramaekers JG.** Psychomotor Function in Chronic Daily Cannabis Smokers during Sustained Abstinence. Taffe M, ed. *PLoS One.* **2013**; 8:e53127. <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053127>>.
86. **Hartman RL, Brown TL, Milavetz G, Spurgin A, Gorelick DA, Gaffney GR, Huestis MA.** Effect of Blood Collection Time on Measured Δ^9 -Tetrahydrocannabinol Concentrations: Implications for Driving Interpretation and Drug Policy. *Clin Chem.* **2016**; 62:367-377. <<https://doi.org/10.1373/clinchem.2015.248492>>.
87. **Kintz P, Brunet B, Muller J-F, Serra W, Villain M, Cirimele V, Mura P.** Evaluation of the Cozart DDSV Test for Cannabis in Oral Fluid. *Ther Drug Monit.* **2009**; 31:131-134. <<https://doi.org/10.1097/FTD.0b013e3181947916>>.
88. **der Linden T Van, Silverans P, Verstraete AG.** Comparison between self-report of cannabis use and toxicological detection of THC/THCCOOH in blood and THC in oral fluid in drivers in a roadside survey. *Drug Test Anal.* **2014**; 6:137-142. <<https://doi.org/10.1002/dta.1517>>.
89. **EWDTs.** European Guidelines for Workplace Drug Testing in Ekshaled Breath. 2022:1-42.
90. **Schwarz K, Biller H, Windt H, Koch W, Hohlfeld JM.** Characterization of exhaled particles from the healthy human lung--a systematic analysis in relation to pulmonary function variables. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv.* **2010**; 23:371+.
91. **Morawska L, Buonanno G, Mikszewski A, Stabile L.** The physics of respiratory particle generation, fate in the air, and inhalation. *Nat Rev Phys.* **2022**; 4:723-734. <<https://doi.org/10.1038/s42254-022-00506-7>>.

EKLER

EK-1: Bu tez çalışması sırasında örnek alınan kişilere uygulanan anket formu

ANKET

Bu anket demografik bilgilerinizi ve yasadışı madde kullanım şeklinizi ve sıklığını sorgulayan soruları içerecek şekilde hazırlanmıştır. Size yıl boyunca yasadışı madde kullanımınızla ilgili bazı sorular sorulacaktır. **Buradan elde edilen bilgiler yalnızca bilimsel bir çalışma için kullanılacak olup, başka hiçbir yerde kullanılmayacak ve paylaşılmayacaktır.** Soruları doğru şekilde cevaplamanızı önemle rica ederiz.

1-Yaş:

2-Cinsiyet:

3-Boy (cm) /Ağırlık (kg):

4-Herhangi bir hastalığınız var mı? (Varsa kullandığınız ilaçları yazınız.)

5-Herhangi bir akciğer hastalığınız var mı? (Astım, Koah gibi)

6-Psikiyatrik ilaç kullanımınız var mı? (Varsa kullandığınız ilaçları yazınız.)

7-Eğitim durumu:

8-Tedaviye ne zaman başladınız?

9- Ne sıklıkla yasadışı madde kullanıyorsunuz?

- a. Aylık veya daha az
- b. Ayda 2 ila 4 defa
- c. Haftada 2 ila 3 kez
- d. Haftada 4 veya daha fazla

10- Yasadışı madde kullanım şekliniz nedir?

- a. Enjeksiyon
- b. İnhalasyon (Sigara içimi gibi)
- c. Oral (Ağızdan Alım)
- d. Diğer (Açıklayınız)

11- Yasadışı madde kullanımınızdan dolayı siz veya bir başkası yaralandı mı?

- a. Hayır
- b. Evet, ancak geçen yıl değil
- c. Evet, geçen yıl içinde

EK-2: Bu tez çalışması sırasında örnek alınan kişilere uygulanan onam formu

AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU

Çalışmanın Adı: Nefeste Uyuşturucu Madde Tespiti İçin Örnek Toplama Cihazı Geliştirilmesi ve Yöntem Validasyonu

Çalışmanın amacı, ülkemizde henüz üretimi ve kullanımı olmayan nefes toplama aracı ile nefes örneklerini toplamak ve aynı zamanda korelasyonun takibi için kan ve idrar örneklerini de toplayarak psikoaktif madde tespiti yapmaktır. Bu amaçla toplanan örneklerden elde edilen sonuçlar öncelikle bilimsel amaçla kullanılacak, kişisel bilgileriniz gizli tutulacaktır. Parasal bir bedel ödemenizi gerektirmeyen ve size de bir ödeme yapılması söz konusu olmayan bu çalışmaya katılmama ve katıldıktan sonra çekilme hakkınız bulunmaktadır. Bu haklarınızı kullanmanız teşhis ve tedavi sürecinizi aksatmayacaktır.

Çalışmada kullanılacak kan, idrar ve nefes örneğinde yasadışı madde pozitif tespit edilmesi halinde kolluk kuvvetlerine herhangi bir bildirim yapılmayacaktır. TCK 192, md4; Uyuşturucu veya uyarıcı madde kullanan kişi, hakkında kullanmak için uyuşturucu veya uyarıcı madde satın almak, kabul etmek veya bulundurmaktan dolayı soruşturma başlatılmadan önce resmi makamlara veya sağlık kuruluşlarına başvurarak tedavi ettirilmesini isterse, cezaya hükmolunmaz. (Ek cümle: 24/11/2016-6763/16 md.) Bu durumda kamu görevlileri ile sağlık mesleği mensuplarının 279 uncu ve 280 inci maddeler uyarınca suçu bildirme yükümlülüğü doğmaz. (1)

(1)<https://www.mevzuat.gov.tr/mevzuat?MevzuatNo=5237&MevzuatTur=1&MevzuatTertip=5>

Ek bilgi talebiniz olursa sözlü olarak karşılanacaktır.

Araştırmamıza katılmayı kabul ediyorsanız, lütfen aşağıdaki bölüme adınızı-soyadınızı yazıp tarih ve imza atınız. Teşekkür ederiz.

SÖZ KONUSU ARAŞTIRMAYA, YUKARIDA BELİRTİLEN KOŞULLAR ÇERÇEVESİNDE HİÇBİR BASKI VE ZORLAMA OLMAKSIZIN KENDİ RIZAMLA KATILMAYI KABUL EDİYORUM.

TARİH:

Katılımcı

Adı, soyadı: :
Adres: :
Tel. :
İmza :

Örnekleri Alan ve Katılımcı ile Görüşen Sağlık Personeli:

Adı soyadı, unvanı :
Adres :
Tel. :
İmza :

EK-3: Etik Kurul Belgesi

T.C. ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Toplantı Sayısı	Tarih
124	22 Temmuz 2022

KARAR NO 12- Adli Tıp Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Nebile Dağlıoğlu, Bağımlılık ve Adli Bilimler Enstitüsü Adli Bilimler Anabilim Dalı Doktora Öğrencisi Aslı Atasoy, Manisa Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Hastanesi'nden Uzm. Dr. Cengiz Cengisiz tarafından yürütülmesi öngörülen, "Geliştirilen Örnek Toplama Aracı ile Nefes Örneklerinin Toplanması ve Yasadışı Madde Tespiti İçin Analizi" başlıklı proje araştırma etiği yönünden değerlendirildi. Toplantıya katılan üyelerin oybirliğiyle uygun olduğuna karar verildi.

BAŞKAN	Prof Dr Selim Kadioğlu Tıp Tarihi ve Etik Anabilim Dalı	
ÜYELER	Prof Dr Davut Alptekin Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı	
	Prof Dr Dinçer Yıldızdaş Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	
	Prof Dr Gülşah Seydaoğlu Biyostatistik Anabilim Dalı	
	Prof Dr Gürhan Sakman Genel Cerrahi Anabilim Dalı	
	Doç Dr Zehra Hatipoğlu Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı	
	Doç Dr Yasemin Saygıdeğer Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı	
	Av Simay Sönmezateş Hukukçu Üye	
	Dr Neşe Kayrın Kurum Dışı Üye	

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası, Balcalı 01330 Adana
Telefon: 0322 338 60 60 dahili 3465, Faks: 0322 338 67 22

ÖZGEÇMİŞ

Aslı ATASOY AYDIN, ilköğretimini Uşak Banaz Mahire Eynel İlköğretim Okulu'nda, Liseyi Uşak Şehit Abdulkadir Kılavuz Anadolu Öğretmen Lisesi'nde tamamladı. 2010 yılında Haliç Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümüne girdi ve 2014'te mezun oldu.

2016 yılında İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Anabilim Dalı'nda Fen Bilimleri alanında tezli yüksek programına başladı. 2017 yılında Çukurova Üniversitesi Bağımlılık ve Adli Bilimler Enstitüsü'nde Adli Bilimler tezli yüksek lisans programına yatay geçiş yaparak 2019 yılında mezun oldu. 2019 yılında Çukurova Üniversitesi Bağımlılık ve Adli Bilimler Enstitüsü'nde Adli Bilimler Doktora programına başladı.

Şu an Ankara Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Anestezi Programı'nda Öğr. Gör. olarak görev yapmakta, Ankara Üniversitesi Adli Bilimler Enstitüsü'nde tam zamanlı olarak çalışmaktadır.