

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YASADIŞI MADDE TARAMA VE İDRAR BÜTÜNLÜĞÜ TESTLERİNE
HİLE KATMA YÖNTEMLERİNİN ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Bağımlılık Toksikolojisi Anabilim Dalı Programı
Yüksek Lisans Tezi

KİMYAGER
Melike GÜNGÖR

DANIŞMAN
Prof. Dr. Serap Annette AKGÜR

İZMİR
2016

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YASADIŞI MADDE TARAMA VE İDRAR BÜTÜNLÜĞÜ TESTLERİNE
HİLE KATMA YÖNTEMLERİNİN ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Bağımlılık Toksikolojisi Anabilim Dalı Programı
Yüksek Lisans Tezi

KİMYAGER
Melike GÜNGÖR

DANIŞMAN
Prof. Dr. Serap Annette AKGÜR

İZMİR
2016

DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ

Başkan : GERALP A. AKGÜL 
Üye : NİL ERTAŞ 
Üye : İSMAİL ÖZGÜR CAN 

Yüksek Lisans Tezinin kabul edildiği tarih: 14.06.2016

ÖNSÖZ

Tanıştığımız günden bu yana hayatımdaki dokunuşları ile yeri doldurulmaz değerli hocam ve tez danışmanım kıymetli Prof. Dr. Serap Annette Akgür'e,

Desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Dr. Kim. Aslı Erdem Yayayürtük'e, Bağımlılık Toksikolojisi laboratuvar çalışanları Halil İbrahim Bostancı, Nevin Köprübaşı, Meral Çelik, Özlem Akın ve Yük. Kim. Rukiye Döğer'e,

Tez çalışmalarım ve zorlu mücadelelerimde her zaman yanımda olan canım aileme, güç kaynağım Eray Aydoğdu'ya, her zaman yanı başımda olan Yük. Kim. Mine Diril'e sonsuz teşekkürlerimle...

İzmir/2016

Melike GÜNGÖR

ÖZET

YASADIŞI MADDE TARAMA VE İDRAR BÜTÜNLÜĞÜ TESTLERİNE HİLE KATMA YÖNTEMLERİNİN ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Yasadışı madde analizi yapan laboratuvarlara başvuran olguların, madde kullanımını gizlemek ya da negatif sonuç elde edebilmek için çeşitli hilesel girişimlere başvurdukları bilinmektedir. Madde kullanıcılarının kullandıkları maddelerin saptanmamasına yönelik geliştirilen kimyasal ürünlerin çeşitliliği her geçen yıl artmaktadır. Bu olumsuz gelişmelere paralel olarak bu ürünlerle elde edilen yanlış negatif sonuçları saptamaya yönelik çalışmalarda güncelliğini korumaktadır. Örneğe müdahale; örneği seyreltme, örneği değiştirme veya hile amacıyla madde katma şeklinde olabilmektedir.

Çalışmamızda 2015 yılında laboratuvarımıza başvuran 5709 olgunun yasadışı madde tarama sonuçları değerlendirilmiştir. Kreatinin değeri <20 mg/dl olan olguların madde/kreatinin değerleri normalize edilerek tekrar değerlendirilmiştir. Örnek değiştirmeye teşebbüs eden kişilerin izledikleri yollar ve tutanaklar incelenmiştir. Hile katma yöntemlerinin incelenmesi amacıyla ise 11-nor-9-karboksi- Δ 9-tetrahidrokannabinol (Δ 9-THC-COOH), amfetamin (AMP) ve 3,4-metilendioksi-metampfetamin (MDMA) pozitif olan yasal sınırlara yakın bir idrar havuzu (Δ 9-THC-COOH için 58 ng/ml, AMP için 1261 ng/ml, MDMA için 511 ng/ml) hazırlanmıştır. Bu havuzdan alınan 5 ml idrar örneğine evsel hile katma ajanlarından çamaşır suyu, sirke, lavabo açıcı ve göz damlası değişen miktarlarda eklenmiştir. Bu aşamadan sonra örneklerin fiziksel özellikleri incelenip, idrar bütünlüğünü gösteren testleri uygulanmış, iki farklı ticari marka kart test ve immunoassay tekniği ile analizler yapılmıştır.

%10 (v/v) çamaşır suyu katılan örneklerde immunoassay sonuçları incelendiğinde Δ 9-THC-COOH yanlış negatif sonuç verirken, AMP düzeyinin arttığı belirlenmiştir. AMP ve Δ 9-THC-COOH'un sirke eklenmesinden etkilenmediği, MDMA'nın eklenen sirke hacmi artıkça negatif sonuç verdiği gözlenmiştir. Eklenen lavabo açıcı, cihazda analiz testlerinin çalışmasını engellerken, göz damlası immunoassay sistemlerinde hiçbir değişikliğe yol açmadığı saptanmıştır.

Laboratuvarımıza başvuran olgular için ortalama kreatinin değeri 155,94±84,26 mg/dl hesaplanmıştır. Olguların yaşları arttıkça kreatinin değerleri düştüğü istatistiksel olarak gösterilmiştir (Pearson Momentler Çarpımı Korelasyon Tekniği, $r = -0,63$, $p < 0.01$). Olguların ($n=5709$) %2,15'inin ($n=123$) <20 mg/dl kreatinin değerine sahip olduğu ve bu olgular içerisinde 11 olgunun örneği seyreltilmiş olduğu belirlenmiştir. Örnek toplama aşamasında yapılan gözetimlerde olguların ($n=5709$) %0.17'sinin ($n=10$) sahte idrar verme girişiminde bulunduğu tespit edilmiştir.

Çalışmanın sonuçları; yasadışı madde analizi yapan laboratuvarlarda, emniyet&gözetim zincirine uygun olarak yapılan, pre analitik, analitik ve post analitik aşamaların birlikte yapılmasının önemi ve gerekliliği ortaya konmuştur. İdrar bütünlüğünü değerlendiren testler laboratuvara ulaşan her idrar örneği için yapılmalı ve sonuçları dikkatle deneyimli laboratuvar çalışanları tarafından değerlendirilmelidir. Kreatinin değerinin toplumlara göre farklılık göstermesi nedeniyle her toplumun laboratuvarların bulundukları bölgeye ait kreatinin değeri hesaplanarak normalizasyon yapılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Hile Katma, Yasadışı Madde, İdrar, İmmunoassay

ABSTRACT

INVESTIGATION OF ADULTERATION METHODS FOR DRUG ABUSE ANALYSIS AND URINE INTEGRITY TESTS

It's known that cases admitted to illicit drug analysis laboratory to attempt to adulteration methods to hide substance use or to obtain negative results. The variety of products which are chemical substances to developed by users do not detect screening tests are increasing every year. Parallel to these negative developments, efforts to detect false negative results obtained with these products are still under discussion. Tampering with a specimen can be dilution, substitution or adulteration.

In this study; illicit drug screening results were evaluated in 5709 cases who have admitted to our laboratory in 2015. Cases that have creatinine values of the <20 mg/dl were normalized in terms of substance / creatinine values. In addition, the ways followed by the person who attempted to substitution and records were examined. A urine pool was prepared with 11-nor-9-carboxy- Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC-COOH), amphetamines (AMP) and 3,4-methylenedioxy-methamphetamine (MDMA) above the legal limits. Household adulteration agents such as bleach, vinegar, drain opener and the eye drops were added in varying amounts into the 5 ml of urine specimen taken from this pool. All specimens were examined in terms of physical characteristics, urine integrity tests and with two different card tests and immunoassay.

While Δ^9 -THC-COOH level was given false negative results with immunoassay in the urine involved bleach (10 % v/v), amphetamine level was increased. It was observed AMP and Δ^9 -THC-COOH levels were unaffected by adding vinegar, MDMA level was given negative result with increasing volume of vinegar. Addition drain opener caused an error in the tests, while eye drops did not cause any change. The mean creatinine value for our laboratory was calculated as 155.94 ± 84.26 11of the cases attempted to dilute the urine specimen. Older subjects when compared with younger cases have significantly lower creatinine values calculated to be statistically (Pearson product-moment correlation, $r = -0,63$, $p < .01$).

10 cases have been detected give substituted urine in during the sample collection step.

The study results were revealed that the importance of chain of custody, pre-analytical, analytical and post-analytical steps should be undertaken together in the illicit drug analysis laboratories. Urine integrity tests should be performed for each urine sample reaching the laboratory and the results should be carefully evaluated by experienced laboratory personnel. Due to the different creatinine values in community, by calculating the value of creatinine in the laboratory, which is each community of the area where the laboratory, is required normalization.

Key Words: Adulteration, Drug, Urine, Immunoassay

İÇİNDEKİLER

DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
ÖNSÖZ	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	ix
TABLolar, ŞEKİLLER VE GRAFİKLER DİZİNİ	x
KISALTMALAR LİSTESİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Kötüye Kullanılan ve Bağımlılık Yapan Yasadışı Maddeler	2
2.2. Yasadışı Maddelerin Adli Toksikolojik Analizi	5
2.2.1. İdrar Bütünlük Testleri	7
2.2.2. İmmunoassay Tekniği	10
2.2.2.1. Kart Testler	15
2.3. Toksikolojik Analizlerde Kullanılan Biyolojik Materyaller	21
2.3.1. İdrar	23
2.4. Hile Katma Yöntemleri	25
2.4.1. Örneğe Madde Katma	26
2.4.2. Örneği Seyreltme	27
2.4.3. Örneği Değiştirme	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM	28
3.1. Kullanılan Kimyasal Madde, Araç ve Gereçler	29
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	29
3.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler	29
3.2. Yöntem ve Deneyler	29
3.2.1. Örnek Toplama	30
3.2.2. Örneğe Madde Katma Analizleri	30
3.2.3. Örneği Seyreltme Çalışması	31
3.2.4. Örneği Değiştirme Çalışması	31
4. BULGULAR	32
4.1. Örneğe Madde Katma	32
4.1.1. Fiziksel Bulgular	32
4.1.2. İdrar Bütünlük Strip Testi ve pH Çalışma Sonuçları	32
4.1.3. Kart Test Çalışma Sonuçları	33
4.1.4. İmmunoassay Çalışma Sonuçları	33
4.1.5. Gaz Kromatografi / Kütle Spektrometresi Çalışması	33
4.2. Örneği Seyreltme	34
4.3. Örneği Değiştirme	36
5. TARTIŞMA	36
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	40
7. KAYNAKLAR	41
EKLER	44
ÖZGEÇMİŞ	48

TABLÖLAR, ŞEKİLLER VE GRAFİKLER DİZİNİ

Şekil 1. Amfetamin, Metamfetamin ve 3,4-Metilendioksimetamfetamin Moleküler Yapısı	4
Şekil 2. Δ9-Tetrahidrokannabinol ve 11-Nor-9-Karboksi-Tetrahidrokannabinol Moleküler Yapısı.....	5
Şekil 3. İdrar yoğunluğu ölçümü.....	8
Şekil 4. İdrarda pH ölçümü	9
Şekil 5. İmmünoassayde madde için antijen (Ag) ve antikor (Ab) ilişkisi	10
Şekil 6. Yarışmalı İmmünoassaylerde Antijen (Ag)-Antikor (Ab) İlişkisi.....	12
Şekil 7. Yarışmasız İmmünoassaylerin Şematik Gösterimi	13
Şekil 8. Klonlanmış enzim donör immünoassayin şematik gösterimi	14
Şekil 9. Dip stik, Kaset Test ve Bardak Test Kullanım Şekilleri	16
Şekil 10. Sandviç Modeli	18
Şekil 11. Yarışmalı Model	19
Şekil 12. Farklı Biyolojik Materyallerde Yasadışı Madde Saptanma Aralıkları	21
Şekil 13. Kreatinin Oluşumu.....	25

Tablo 1. Etkilerine Göre Bağımlılık Yapan Maddeler (7)	3
Tablo 2. SAMSHA Rehberi 2010 Cut Off Değerleri (19)	6
Tablo 3. Bazı maddelerin ve metabolitlerinin idrar örneklerinde tespit edilebilecekleri süreler	24
Tablo 4. İdrar Bütünlük Strip Testi ve pHmetre Çalışma Sonuç Tablosu	32
Tablo 5. Hile Katılmış Örneklerde Kart Test Çalışması Sonuçları.....	33
Tablo 6. İmmünoassay Çalışma Sonuçları.....	34
Tablo 7. İdrar Bütünlüğü Sağlayan ve Kreatinin Değerleri <20 mg/dl Olan Olguların Normalizasyon Tablosu	35

KISALTMALAR LİSTESİ

ALIS: Laboratuvar Bilgi Yönetim Sistemi

AMP: Amfetamin

EMCDDA: Avrupa Uyuşturucu ve Uyuşturucu Bağımlılığı İzleme Merkezi

EWDTS: The European Workplace Drug Testing Society, Avrupa İşyeri Uyuşturucu Madde Testi Derneği

MDA: Metilendioksiamfetamin

MDMA: 3,4-metilendioksi-metamfetamin

MET: Metamfetamin

PCC: Pridinyum Klorokromat

SAMHSA: Substance Abuse and Mental Health Services Administration, Madde Kullanımı ve Ruh Sağlığı Hizmetleri İdaresi

SOFT: Society of Forensic Toxicologists, Adli Toksikoloji Derneği

Δ 9-THC: Δ 9-Tetrahidrokannabinol

Δ 9-THC-COOH: 11-nor-9-karboksi- Δ 9-tetrahidrokannabinol

TIAFT: The International Association of Forensic Toxicologists, Uluslararası Adli Toksikologlar Derneği

TUBİM: Türkiye Uyuşturucu Ve Uyuşturucu Bağımlılığı İzleme Merkezi

WHO: World Health Organization, Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ

Yasadışı maddelerin kötüye kullanımı ve bağımlılığı son yıllarda dünyada ve ülkemizde en önemli sağlık ve güvenlik sorunlarından biri haline gelmiştir. Yasadışı maddelerin kötüye kullanımı veya bağımlılığına yönelik toksikolojik analiz gerektiren durumlar; işyeri madde testleri, madde etkisinde taşıt kullanımı, yaralama veya ölümle sonuçlanan motorlu taşıt kazaları, bağımlılık tedavisi veya denetimli serbestlik uygulamaları, kişinin isteği ve/veya bilgisi dışında kendisine madde verildiğinden şüphelenilen durumlar, boşanma ya da velayet davalarında taraflardan birinin iddiası üzerine analiz yapılması istenmesi şekilde sıralanabilir. Anlaşıldığı üzere madde kullanımının yasalarımız, hukuk ve adli sistemlerle yakından ilişkisi bulunmaktadır.

Ülkemizde yasadışı madde kullanımını engellemek ve tedavi etmek amacıyla, 2005 yılında Resmi Gazete’ de yayımlanan 5237 Sayılı Türk Ceza Kanunu’nun 191. Maddesi gereğince, “kullanmak için uyuşturucu veya uyarıcı madde satın almak, kabul etmek veya bulundurmak ya da uyuşturucu veya uyarıcı madde kullanan kişi, iki yıldan beş yıla kadar hapis cezası ile cezalandırılır” ibaresi bulunmaktadır. Ayrıca aynı yasa kapsamında uyuşturucu veya uyarıcı madde kullanan kişi hakkında, tedaviye ve denetimli serbestlik tedbirine karar verebilir, hakkında tedaviye ve denetimli serbestlik tedbirine karar verilen kişi, belirlenen kurumda uygulanan tedavinin ve denetimli serbestlik tedbirinin gereklerine uygun davranmakla yükümlüdür maddeleri yer almaktadır (1).

4857 sayılı İş Kanunu’nun 84. Maddesi gereğince, işyerine sarhoş veya uyuşturucu madde almış olarak gelmek ve işyerinde alkollü içki veya uyuşturucu madde kullanmak yasaktır. Bu nedenle işe alınacak personelin yasalara uyumlu ve güvenilirliğinin test edilmesi ve iş başında iken alkol veya madde etkisi altında olmaması istenir (2).

Trafikte ise 2918 sayılı Karayolları ve Trafik Kanunu’nun 48. Maddesinde alkol ve uyuşturucu/uyarıcı madde kullanımı yasaklanmıştır. Sürücülere alkol testi uygulaması mevcut olmasına rağmen uyuşturucu ve uyarıcı madde testi uygulamasına tükürük testleri ile geçilmişmiş, çok yeni olarak gündem içinde yer almaktadır (3).

Bu noktada, yasalarla belirlenen madde kötüye kullanımı ya da bağımlılığının tespit edilmesi, uygulamaya konması için yasadışı madde analizi yapacak olan adli

toksikoloji laboratuvarlarına yönelik düzen ve rehber oluşturma girişimleri henüz başlamıştır. Dünya’da Uluslararası Adli Toksikologlar Derneği (TIAFT), Avrupa İşyeri Uyuşturucu Madde Testi Derneği (EWDTS), Madde Kullanımı ve Ruh Sağlığı Hizmetleri Yönetimi (SAMHSA), Adli Toksikoloji Derneği (SOFT) gibi kuruluşlar yasadışı madde analizleri yapan laboratuvarların gereksinimleri, eğitimleri, sınırlılıkları ve uygulanabilirliği hakkında rehberler sunmakta ve güncellemektedir.

Yasadışı madde analizlerinde madde kullanımını ya da kötüye kullanımı göstermek için uygulanan adli toksikolojik yaklaşımlarda analiz öncesi (pre analitik), analiz (analitik) ve analiz sonrası (post analitik) olmak üzere üç önemli aşama vardır (4). Bu bağlamda örnek toplanma, analiz ve yasadışı madde analizi sonuçların yorumlama ve değerlendirilmesini bir bütün olarak ele alan bu tez çalışması ile idrar örneklerine olası hile katma yöntemleri araştırılmıştır. İdrar, hilesel girişimlere açık bir biyolojik materyaldir. Madde kullanımını sürdüren kişi madde testlerinden negatif sonuç elde etmek için çeşitli hilesel girişimlere başvurdukları bilinmektedir. Bu girişimler; örneği seyreltme, değiştirme ya da dışarıdan madde eklenmesi şeklinde olabilir (5). Bu girişimleri önlemek ve saptamak amacıyla; örnek toplama aşaması, analiz yöntemleri ve uygulanacak test parametreleri, sonuçların değerlendirilmesinin bütünlüğüne dikkat çeken bu çalışma tasarlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Adli ve tıbbi kaynaklarda reçetelendirilen ilaçların tıbbi kullanım dışında kullanılması maddenin *kötüye kullanımı*ni tanımlamaktadır.

Madde bağımlılığı ise, ilaç niteliğine sahip bir maddenin beyni etkilemesinden kaynaklanan, maddenin keyif verici etkilerini duyumsamamak veya yokluğundan kaynaklanan huzursuzluktan sakınmak için, devamlı veya periyodik olarak madde alam arzusu ve bazı davranış bozukluklarıyla karakterize bir beyin hastalığı olarak tanımlanabilir (4).

2.1. Kötüye Kullanılan ve Bağımlılık Yapan Yasadışı Maddeler

Bağımlılık yapan maddeler, insan davranışlarını değiştirebilme özelliğine ve bağımlılık yapma potansiyeline sahip olan maddelerdir (6). Tablo 1.’de etki mekanizmalarına göre bağımlılık yapan maddeler yer almaktadır.

Tablo 1. Etkilerine Göre Bağımlılık Yapan Maddeler (7)

Etki	Bağımlılık Yapan Madde
Uyuşturucular	Narkotikler; Afyon Ürünleri, Morfin, Sentetik ve Yarı Sentetik Narkotik Analjezikler
Yatıştırıcılar	Depresanlar; Alkol, Sedatif Ve Trankilizan İlaçlar
Uyarıcılar	Stimülanlar; Kokain, Amfetamin Grubu, Khat
Halüsinojenler	Esrar, Fensiklidin, Meskalin, Lizerjik asit dietilamid (LSD)

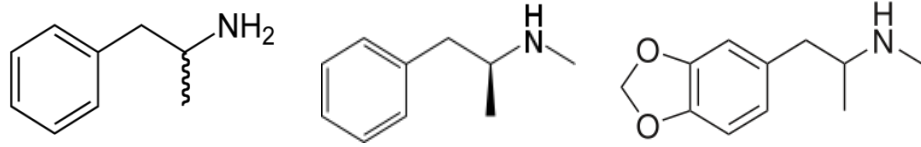
Uyuşturucular grubunda yer alan maddeler güçlü analjezik etkileri ile birlikte santral sinir sisteminde doza bağımlı olarak oldukça yaygın etki gösterirler. Bu grubun üyelerinin hemen hepsinin keyif verici ve rahatlatıcı etkilerinden dolayı ve hızlı tolerans geliştiği için kısa sürede bağımlılık gelişir (8).

Yatıştırıcılar; kaygı ve sıkıntı hissini azaltan, mental sakinlik yaratan, uykuya dalabilmek için kullanılan ilaçlar ve alkol içeren içecekleri kapsamaktadır (6).

Uyarıcılar grubunda yer alan maddeler öfori, artmış duygu durum, enerji ve özgüven artışı, konuşkanlık, yorgunluğun azalması ve uyanıklık artışı nedeniyle suiistimal edilen maddelerdir. Kokain, fazlaca mutluluk ve enerji verdiği için oldukça güçlü bağımlılığı olan bir maddedir (9). Khat ise, Doğu ve Orta Afrika'da özellikle Arap yarımadasında ve Yemen'de sıklıkla kullanılan bir bitkinin kök ve taze yapraklarından elde edilen bir uyarıcı grubu bağımlılık yapıcı bir maddedir (10). Bu grupta yer alan **amfetamin grubu**, günümüzde halen tıbbi amaçlar için kullanılan ilaçlardır. Amfetamin (AMP), aktif dekstroizomeri dekstroamfetamin, metamfetamin (MET) ve metilfenidat grup olarak benzer kimyasal ve farmakolojik özellikler gösterirler. Presinapstan dopamin salınımı yaparak etki gösterirler. 3,4-metilendioksimetamfetamin (MDMA) ve diğer amfetamin benzerleri dopamin dışında serotonin salınımına da neden olur. Serotonin hallusinojen maddelerin etki göstermesini sağlayan nörotransmitter olduğu için, MDMA'nın etkilerinin halüsinojenlere benzediği söylenebilir. Kullanıldığında keyif, coşkunluk, neşe verir, kişi kendini canlı hisseder, dikkati ve performansı artar. MDMA gibi maddeler ile başkalarına karşı yakınlık, nesnelerde parlaklık hissi yaşanır (11).

Amfetamin gastrointestinal sistemden kolayca emilir. Daha fazla etki elde etmek için burundan çekme ya da enjekte yoluyla kullanımı mevcuttur. Amfetamin kan beyin kolay geçer ve muhtemelen bu nedenle etkileri diğer aminlere göre daha kuvvetlidir. Amfetamin genellikle idrar ile değişmeden atılır ve atılım hızı idrar

asitleştirildikçe artar. Amfetaminin plazma yarılan ömrü 5 ila 30 saat arasında değişebilir, idrar akışı ve idrar pH'ı bunu belirlemede önemlidir (12). MDMA karaciğer de N-demetilasyona uğrayarak 3-4 metilendioksiamfetamine (MDA) dönüşür. MDA ve MDMA o-demetilasyon ile sırasıyla α -metildopamin ve N-metil- α -metildopamine dönüşür. Oluşan bu metabolitler oksidasyona uğrayarak metabolize olur. Diğer bir metabolizma yolu da glisin, sülfat ve glukronidkonjugasyonudur (12).

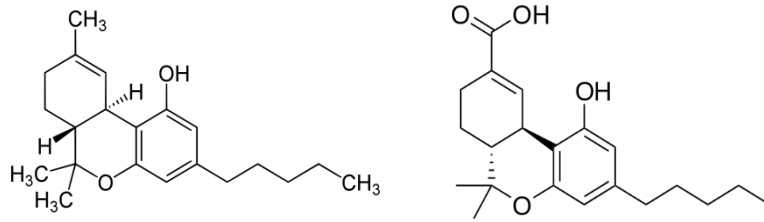


Şekil 1. Amfetamin, Metamfetamin ve 3,4-Metilendioksimetamfetamin Moleküler Yapısı

Amfetaminler için primer tarama yöntemi olarak immunoassayler kullanılmaktadır. Amfetamin testleri genellikle amfetamin, metamfetamin ya da her ikisini birden tespit etmeyi hedef alır. Amfetaminin ve metamfetaminin moleküler yapısının birbirine çok benzemesi her bir bileşiğe özgü antikor üretmeyi güçleştirmektedir. Bu nedenle farklı immunoassay yöntemlerinde çapraz reaksiyonlar görülebilir. Amfetamin ve benzeri maddelerin çeşitli matrislerde tespit edilme süreleri bireyin genetik özelliklerine, kullanılan maddeye, kullanım sıklığına ve daha birçok faktöre bağlı olarak değişebilmektedir (11).

Halüsinojenler grubunda yer alan maddeler düşünceyi, algıyı ve duygu durumunu psikomotor uyarı ya da depresyon yapmadan etkileri oluşur. Sık kullanımı olan halüsinojenlerde biri Lizerjik asit dietilamid (LSD)'dir. Birer anestezi olan fensiklidin, oldukça benzer etkilere sahip olan ketaminde kullanımı oldukça fazla olan maddelerdendir. Bu maddeler bazı kaynaklarda klüp ilaçları olarak da geçmektedir (6). Cannabis Sativa bitkisinden elde edilen kannabinoidler, kullanıldığında vücutta sarhoşluk ve keyif veren, tıbbi ve eğlence amaçlı kullanımı ile ilgili uzun bir geçmişe sahiptir ve bugün dünya genelinde en yaygın üretilen ve tüketilen yasadışı maddedir. Cannabis bitkide bulunan Δ 9-Tetrahidrokannabinol (Δ 9-THC), Δ 8-Tetrahidrokannabinol (Δ 8-THC), Kannabinol (CBN), 11-hidroksi- Δ 9-Tetrahidrokannabinol (11-OH-THC), anandamit psikoaktif metabolitler iken, Kannabidiol, Kannabikromen, (-) Δ 8-THC-11-nor-oik asit inaktif metabolitleridir (11). Δ 9-THC tüm kannabinoidler içinde en fazla psikoaktif etkiye sahip

kimyasaldır. Kannabis kullanımı genellikle sigara kâğıtlarına sarılarak veya puro yapraklarına sarılarak bitki materyalinin dumanının solunması veya bu bitkiden hazırlanan farklı kısımların çay gibi demlenerek içilmesi veya yenilmesi şeklindedir. Esrar genellikle ağızdan (oral yolla) veya dumanı solunarak, 5-20 mg arasında değişen dozlarda uygulanır. Bu madde; halüsinasyon, zaman kavramında bozulma, öfori ve sedasyon dahil olmak üzere çeşitli farmakolojik etkilere sebep olabilir. Genel kullanım yolu olan dumanın inhalasyonu sayesinde kannabis hızlı ve etkili olarak akciğerlerden hızla emilir. $\Delta 9$ -THC ve metabolitleri özellikle lipoproteinler olmak üzere % 95-99 oranında plazma proteinlerine bağlanır. Kannabis sigarası içildikten sonra, $\Delta 9$ -THC hızlıca dokulara dağıldığı ve karaciğerde metabolize edildiği için plazma konsantrasyonu düşer (15). Esrar sigarasından çekilen ve dışarı üflenen ilk dumanın ardından kanda $\Delta 9$ -THC saptanabilir, 3 ile 8 dakika sonra plazmada pik yapar. Vücuttaki dağılımı, maddenin yüksek lipofilikliğine uygun olarak gerçekleşir. Sigara gibi içiminin ardından $\Delta 9$ -THC' nin biyoyararlanımı için kaydedilen değerler %18-50 arasında değişmektedir. Kannabinoidler temel olarak karaciğerde metabolize edilir, fakat beyin, akciğer ve bağırsaklar gibi diğer dokularda da biyotransformasyona uğrayabilirler. 72 saat içinde, bir doz $\Delta 9$ -THC' nin yaklaşık %70'inin %30' u idrarla %40' ı dışkıyla atılır. 11-Nor-9-Karboksi- $\Delta 9$ -THC ($\Delta 9$ -THC-COOH) ve onun glukuronit konjugatı biyotransformasyonun temel son ürünleridir (16).



Şekil 2. $\Delta 9$ -Tetrahidrokannabinol ve 11-Nor-9-Karboksi-Tetrahidrokannabinol Moleküler Yapısı

2.2. Yasadışı Maddelerin Adli Toksikolojik Analizi

Madde analizi yapan laboratuvarlara, başvuran kişilere ait belgelerin ve örneklerin emniyet&gözetim zincirinde ve soğuk zincirde ulaşmış olması önemlidir. Örnek toplamanın doğru yapılması, analiz edilecek madde/metabolite uygun analitik

yöntem seçilmiş olması ve sonuçların yorumlanması, doğru sonuçlar verilebilmesi için gerekli zincirin birer parçalarıdır (17).

Toksikolojik analizlerin **preanalitik** aşamasında, kişinin madde kullanımı ve sağlık durumu değerlendirilir. Eğer ne kullandığı biliniyorsa, hangi sıklıkla ve ne zaman kullandığı, maddenin miktarı, maddenin farmakokinetik özellikleri, kişinin yaşı, cinsiyeti, ağırlığı, yağ dağılımı, karaciğer-böbrek fonksiyonları, metabolizması, varsa ek hastalıkları, kullandığı ek ilaçlar (sigara, alkol dâhil) bilinmelidir (4).

Analitik aşamada kullanılan yöntemlere göre farklı sınırlılıklar mevcuttur. Yapılan çalışmalarla kişilerin üzerinde oluşan olumsuz etkilere göre hesaplanmış ve dünyada uygulanan toksikolojik analiz rehberlerinin açıkladığı değerlere de “*cuf off değeri*” ya da “sınır değeri/eşik değeri” adı verilir. Bu değerin üzerinde çıkan sonuçlara “*pozitif*”, altında çıkan sonuçlara ise “*negatif*” denir. Örnek veren kişilerin kullandıkları ilaçlar, mevcut metabolik hastalıklar ya da tükettikleri gıdalar nedeniyle gerçek durum negatifken test sonucu pozitif çıkan durumlar için “*yanlış pozitif*”, örneğe müdahale, örnek alımı öncesinde sonucu negatif çıkabilecek ilaç ya da hileli ürünler kullanma ile gerçek durum pozitifken test sonucu negatif çıkan sonuçlara ise “*yanlış negatif*” denilmektedir (18).

Tablo 2. SAMSHA Rehberi 2010 Cut Off Değerleri (19)

Ön Tarama Test Analitleri	Ön Tarama Testi Cut Off Değerleri (ng/ml)	Doğrulama Metaboliti	Doğrulama Testi Cut Off Değerleri (ng/ml)
Esrar metaboliti	50	Δ^9 -THC-COOH	15
Kokain Metaboliti	150	Benzoilekgonin	100
Opiyat metabolitleri Kodein/ Morfin	2000	Kodein/ Morfin	2000
6-Asetil Morfin	10	6-Asetil Morfin	10
AMP VE MET	500	AMP/MET	250
MDMA	500	MDMA/MDA/MDEA	250

Adli toksikolojik analizlerde öncelikle tarama/tanımlama, daha sonra madde tanımlanmışsa daha özel hassas bir yöntemle doğrulama yapılmalıdır. Tarama aşaması sonucu negatif ise diğer aşamaların uygulanmasına gerek görülmez (20). Maddelerin tarama/tanımlama analizleri için nitel (kalitatif) olarak ultraviyole

spektroskopisi, ince tabaka kromatografisi, ve immunolojik yöntemler uygulanır. Tarama testleri genelde hızlı sonuç verir, uygulaması kolaydır ama özgüllüğü zayıftır. Tarama aşamasını takiben adli toksikolojide pozitif çıkan sonuçlar doğrulanmalıdır. Doğrulama testleri ise daha geç sonuç verir, maliyetlidir ancak duyarlılığı ve seçiciliği yüksektir. Tanımlanan maddenin yapısına uygun olarak kromatografik yöntemleri (GC/MS, HPLC, LC/MS/MS vb.) kullanılır (21).

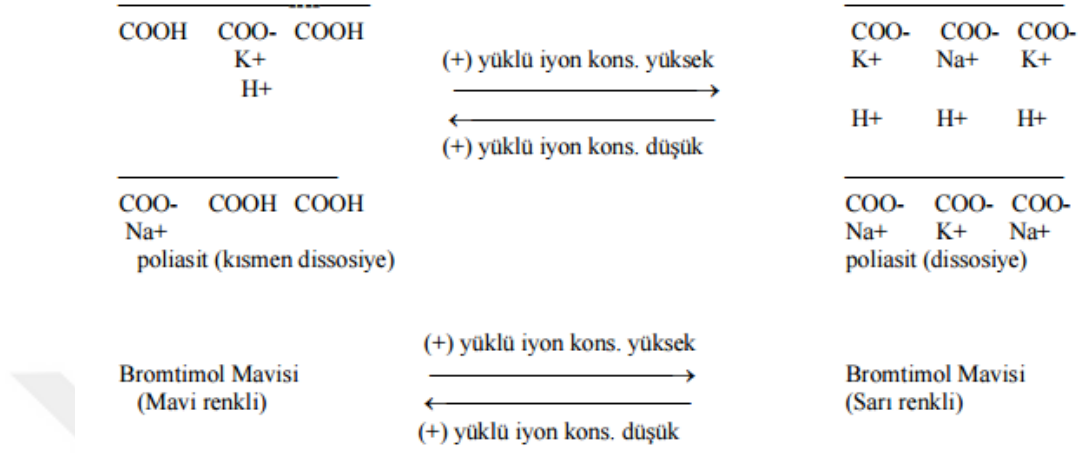
Post analitik aşamada ise analitik işlemler tamamlandıktan sonra bütün veriler konu ile ilgili eğitim almış kişiler tarafından değerlendirilerek sonuç raporu hazırlanmalıdır (6).

2.2.1. İdrar Bütünlük Testleri

İdrar bütünlük testleri, idrarın normal aralıklarda olması gereken fizyolojik değerlerini ve sağlıklı kişilerin idrar örneklerinde bulunmayan maddelerin hile katma amacı ile yanlış negatif sonuç vermek için kullanılmasını önlemek ve tespit etmek için geliştirilmiş testlerdir. Bu testler; nicel tayine dayalı kreatinin, nitrit, glutraldehit, pH, yoğunluk gibi idrar bütünlüğünü etkileyen etmenleri görsel olarak tayin etmek üzere tasarlanmıştır (22).

İdrar yoğunluğu, bir numunenin ağırlığının eşit hacimdeki saf suyun aynı sıcaklıktaki ağırlığına oranı olarak tanımlanır. Glomerüllerden süzölmüş plazma ultrafiltratının yoğunluğu 1.010'dur. Normal fonksiyon gören böbreklerde vücudun o andaki su ihtiyacına bağlı olarak idrar deriştirilir veya seyreltilir. Bu nedenle idrarın yoğunluğu gün boyunca sürekli değişim gösterir. Sağlıklı bir insanda, böbreklerin idrar yoğunluğunu 1.003 ile 1.035 arasında ayarlama kapasitesi vardır. Klinik uygulamada, yoğunluk ölçümü için refraktometrelerden ve idrar striplerinden yararlanılır. Refraktometreler, bir sıvı içinden geçen ışığın kırılma derecesinin içinde çözönmüş halde bulunan katı partiköl sayısı ile orantılı olması prensibinden yararlanılır. Refraktometre kullanımının tercih ve tavsiye edilmesinin en önemli sebepleri, çok az miktarda numune gerektirmesi ve 15-38 °C arasında ortam sıcaklığından etkilenmemesidir. İdrar bütünlük test striplerinde ise, yoğunluğu 1.000 ile 1.030 arasında 0.005'lik birim aralıklarla ölçer, kullanılan reaktif, kısmen sodyum hidroksit ile titre edilmiş poliasit yapısında bir madde ve bromtimol ihtiva eder. İdrarda bulunan iyonlar, çözönererek asit gruplarını bir bulut gibi örtöerek iyonize olmalarını sağlar. Bu şekilde iyonize olan asit gruplarından serbest protonlar, bölgesel olarak pH'nın artmasına neden olur. pH artışı ise indikatör olarak kullanılan

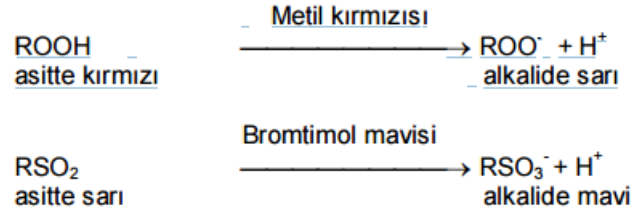
bromtimol mavisinin renginde değişikliğe sebep olur. Bir anlamda striple yapılan yoğunluk ölçümünde ortamdaki iyon konsantrasyonunun ölçüldüğü düşünülebilir (22).



Şekil 3. İdrar yoğunluğu ölçümü

Kreatinin konsantrasyonu böbrek fonksiyonunun değerlendirilmesinde kullanılan en önemli maddedir. Serum ve idrarda kreatinin ölçümü için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bunlar içinde en yaygın kullanımı olan yöntem, alkali ortamda pikrik asit ve kreatinin arasında renk oluşumuna dayanan Jaffe reaksiyonuna dayanır. Jaffe reaksiyonu kreatinine özgü değildir; glukoz, proteinler, aseton, askorbik asit, alfa-keto bileşikler, bilirubin, sefalosporin grubu antibiyotikler gibi çok sayıda metabolit veya molekülden etkilenir. Bu yüzden, Jaffe reaksiyonu kreatinin konsantrasyonunun gerçek değere göre daha yüksek hesaplanmasına neden olur. Buna rağmen, ilk kez Jaffe tarafından 1886'da tanımlanan Jaffe reaksiyonu günümüzde hala geçerliliğini korumaktadır. Jaffe yönteminin özgüllüğünün geliştirilmesi için farklı yaklaşımlar önerilmiştir. Reaksiyonun başlatılmasından bir süre sonra seçilen zaman aralığında (genellikle 10 – 80 saniye) renk oluşum hızının ölçülmesi girişimleri bir ölçüde azaltmaktadır. Diğer bir yaklaşım ise alkali ortamda kreatinin ile oluşan rengin asit eklenmesi ile yeniden kaybolması temeline dayanan asidifikasyon işlemidir. Kreatinin ölçümünde enzimatik yöntemler de tanımlanmıştır. Kreatinin ölçümü için geliştirilen enzimatik yöntemlerin, kinetik Jaffe yöntemine göre daha özgül olduğu belirtilmektedir (23).

Günümüzde kullanılan idrar striplerinde **pH** ölçümü için metil kırmızısı ve bromtimol mavisi karışımı kullanılır. Metil kırmızısı, asit ortamda kırmızı renktedir. Alkali ortamda iyonize olarak sarıya dönüşür. Bromtimol mavisi ise asit ortamda sarı renktedir. Alkali ortamda iyonize olarak mavi renk alır. Bu karışımın ortamın pH'sı nedeniyle aldığı rengin, renk göstergesindeki karşılığı bulunarak numunenin pH'sı tayin edilir.



Şekil 4. İdrarda pH ölçümü

Böbreklerin idrar pH'sını 4,5 ile 8,0 arasında ayarlama kabiliyeti bulunmakla birlikte, metabolik aktivite nedeniyle normal koşullarda hafif derecede asidik olma (5,5 – 6,5 arası) eğilimindedir. Proteinler ve asidik meyveler idrarın asidik olmasına neden olur. Sitrattan yönünden zengin diyetler ise alkali idrara neden olur. İdrarın pH'sı genellikle plazma pH'sını yansıtır. İdrarın beklemesi, CO₂ kaybı ve amonyak oluşumu nedeniyle pH'yı yükseltir (23).

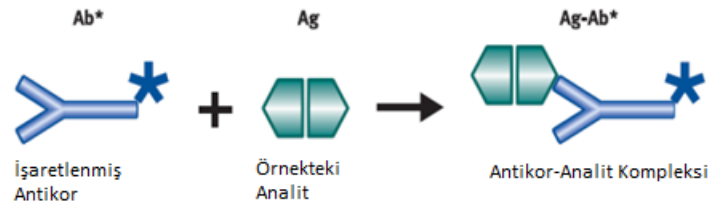
Nitrit testi, diazonyum tuzunu vermek üzere bir aromatik aminin tepkimesine dayanır, nitrit miktarına göre renk değişimi olur. İdrarda nitrit saptanması enfeksiyon göstergesi, bakteriyel bulaş, uygun olmayan saklama koşulları nedeniyle olabilir. 3.6 ng/ml'ye kadar normal, >50 mg/dl anormal değer olarak kabul edilir (25).

Gluteraldehit testi ise, test stribinde bulunan aldehit grubu ile gluteraldehitin tepkimesi sonucu belirlenir. Normal bir idrar örneğinde saptanan madde değildir, idrara hile katma amaçlı satılan pek çok ürün içerisinde bulunur. Ketoasidoz, açlık veya diğer metabolik anormallikler de, keton cisimleri idrarda görünebilir ve test striplerinde normal değerler dışında renk oluşturabilirler. **Ağartıcı** ve **pridinyum klorokromat** (PCC) parametreleri idrar strip renk testi ile belirlenir. Her iki madde de normal şartlarda idrarda bulunmaz, hile amaçlı oksidatif ürünler kullanımı olduğu bu testler ile belirlenir (5).

A. Dasgupta ve arkadaşlarının 2004 yılında yapmış olduğu bir çalışmada hilesel girişimleri saptamak için geliştirilen iki farklı marka test stribini ve nitel analiz yöntemleri kıyaslanmıştır. Hile katmak için potasyum nitrit içeren “Klear” ve “Whizzies” , pridinyum klorokromat içeren “Urine Luck” adlı ürünler ve çamaşır suyu kullanılmıştır. Düşük nitrit derişimlerinde spot testler başarısız olurken yüksek derişimlerde stiplerle nitrit saptayabilmiştir. Düşük ve yüksek derişimlerde PCC için tüm testler pozitif sonuçlanmıştır. Çamaşır suyu ve glutraldehit çalışmalarında düşük derişimlerde renk değişimi gözlenmiştir. Kreatinin, yoğunluk ve pH değerleri ölçülen ve test stripleri ile uyumlu bulunmuştur (11).

2.2.2. İmmunoassay Tekniğı

İmmunoassay tekniğinin ilkesi, analit ve analite özgü antikorun yaptığı kompleksin tanınmasına dayalı analitik bir yöntemidir. Bu yöntemde analizi yapılacak analite (antijen) karşı geliştirilen özgün "antikor" ve analizi yapılacak bu analitin işaretlenmiş şekli kullanılır. Tayini yapılacak moleküllere karşı antikorların elde edilmesi immunoassayin en önemli bölümüdür. Analizi yapılacak kimyasal maddeyi içeren biyolojik sıvıya, belirli derişimde antikor ve işaretlenmiş analit ilave edildiğinde karışımla bir tepkime gerçekleşir.



Şekil 5. İmmünoassayde madde için antijen (Ag) ve antikor (Ab) ilişkisi

Antikor yarışmalı olarak serbest işaretlenmiş analit ve analizi yapılacak madde ile bir kompleks oluşturur. İçindeki analit miktarı tayin edilecek karışımda "bağlı işaretlenmiş analit" moleküllerinin "bağlı işaretlenmemiş analit" moleküllerine oranı serbest analitin miktarı ile ters orantı ile saptanabilir (26).

İmmunoassaylerin sınıflandırılması, analitlerin işaretlenmesi çeşidine göre birçok alt sınıflara ayrılır:

Radyo immunoassay: Radyoaktif atomların immüno-kimyasal reaksiyonlarda antijeni işaretlemek için kullanılarak, maddelerin miktar tayinlerinin radyoaktivitenin

ölçülmesi ile yapılan yöntemdir. İlk kez 1959 yılında plazmada insülin tayini için kullanılmıştır.

Floro immunoassay: İşaretleme floresan özelliği olan bir madde ile yapılır. Miktar tayini spektrofotometre ile saptanır.

İmmuno kemiluminesans: İşaretleme kemiluminesans veren bir madde ile yapılır.

Enzim immunoassay: İşaretleme enzim ile yapılır. Enzim aktivitesi tayin edilerek analizi yapılacak maddenin miktarı saptanır.

İmmunoassay tekniği, karışıma doğrudan uygulanabiliyorsa "homojen immunoassay", eğer karışımdan işaretli maddenin ayrılmasından sonra uygulanabiliyorsa "heterojen immunoassay" adı verilir. Radyo immunoassay heterojen; Enzim ve floro immunoassay ise homojen immunoassaylere örnektir (18).

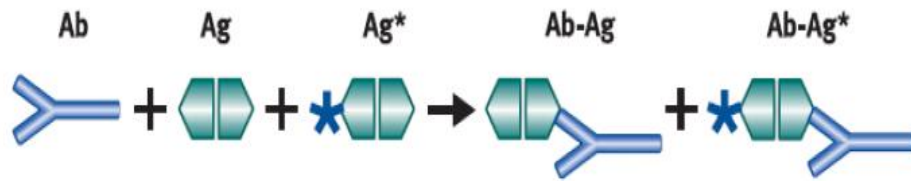
İmmunoassay teknolojileri oldukça farklılaşmış ticari sunumları olan geniş bir ailedir. Yarışmalı ve immunometrik (sandviç) olarak temel anlamda immunoassay formatı ikiye ayırabilir. Yarışmalı immunoassay sistemler küçük molekül ağırlıklı analitlerde özgün antikor varlığında çalışırken, sandviç immunoassayler daha büyük moleküler ağırlıklı analitlerde (protein, peptid) ve iki ayrı özgün antikor varlığında çalışan sistemlerdir. Yasadışı madde analizinde genelde daha küçük moleküller söz konusu olduğundan yarışmalı immunoassayler ilaç/madde düzeyi ölçümünde daha yaygındır.

Antijen veya antikor miktarını ölçmek için işaretli materyallerin kullanımına ihtiyaç duyarlar. Belirteçler, assayin bir bölümü olarak rol oynayan moleküldür ve çözeltide ölçülebilen bir sinyal üretir. Bu bir radyoaktif bileşik veya çözelti renginde veya floresansında bir değişikliğe sebep olan bir enzim olabilir.

Günümüzde çok sayıda farklı antikor kullanılmaktadır. Hayvanlardan poliklonal antikorlar, analitin kendisi veya büyük moleküllü adjuvan kompleksi ile hayvana enjeksiyonu sonrasında elde edilir. Daha sonra hayvanın serumundan bu antikorlar alınır. Daha yenilerde mast hücresi aracılı tümör hücresine inokülasyonla tek klonlu monoklonal antikorların özgün antikor üretimi amaçlı kullanımı söz konusudur. Monoklonal antikorların poliklonal olanlara üstünlükleri; poliklonal antikorlarda üretimin olduğu canlı hayvanın her defasında farklı özellikler gösteren bireyler olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Analit için monoklonal antikorlarla karşılaştırıldığında poliklonal olanlar çok sayıda ve daha az özgün görünüm oluşturmaktadır. Poliklonal antikorlar, genelde yanlış pozitif sonuç verirler

çünkü antijen epitoplarına daha az özgündür ve değişken bağlanma afinitelerine sahiptirler. Antijenlerine benzer başka moleküllere de bağlanabilirler. Bazen reaktif içerisinde bir peptidaz kullanılarak tam antikor yerine onun fragmanları kullanılır (Fab antikorları). Antikorların üretimi immunoassaylerin kullanımında önemli bir işlemdir. Çünkü cihazın sonuçları oluşturmada kullandığı oluşan antijen antikor kompleksleridir. Monoklonal antikorlar, antikor üreten hücre ile miyelom hücrelerini kaynaştırarak elde edilirler. Sonuç hücresine hibridoma denir. Hibridomalar çok miktarda antikor içerirler. Tanınan antikorları içeren hücre popülasyonlarında kültürleri kolayca yapılabilir. Bu antikorlar monoklonal antikorlar olarak adlandırılırlar çünkü tek bir antikor klonu oluşturan hücrenin döllemesinden elde edilirler (27).

Yarışmalı immunoassaylerde, test örneğindeki işaretlenmemiş analitin sınırlı sayıdaki antikor bağlayıcı bölge için işaretlenmiş antijen ile yarışmaya girme yeteneğine göre ölçülür. İşaretlenmemiş antijen, işaretlenmiş antijenin bağlanmasını bloke eder çünkü antikor üzerindeki bağlanma bölgesi önceden işgal edilmiştir. Burada örnek içindeki ölçülecek analit ile miyarda (reagent) bulunan işaretli bir analitin veya analogunun sınırlı sayıdaki özgün antikor ile yarışması söz konusudur. Antikora belirtecin bağlanması, ölçümü yapılan analitin miktarı ile ters orantılı olduğundan sinyalin miktarına göre antijen ve antikor etkileşimi prensibinden hareketle miktar tayini yapılmaktadır.



Şekil 6. Yarışmalı İmunoassaylerde Antijen (Ag)-Antikor (Ab) İlişkisi

Yarışmasız immünoassaylerde, işaretli analitin miktarı antijenin miktarıyla doğru orantılıyken; yarışmalı immunoassaylerde ters orantılıdır. Yarışmasız immunoassayler, genellikle en üst seviyedeki hassasiyet ve spesifiteyi sağlarlar. Bu tür, sandviç assay olarak bilinir çünkü analit iki yüksek spesifiteye sahip antikor

Şekil 7. Yarışmasız İmmunoassaylerin Şematik Gösterimi

Homojen yöntemler genellikle suistimal edilen veya terapötik

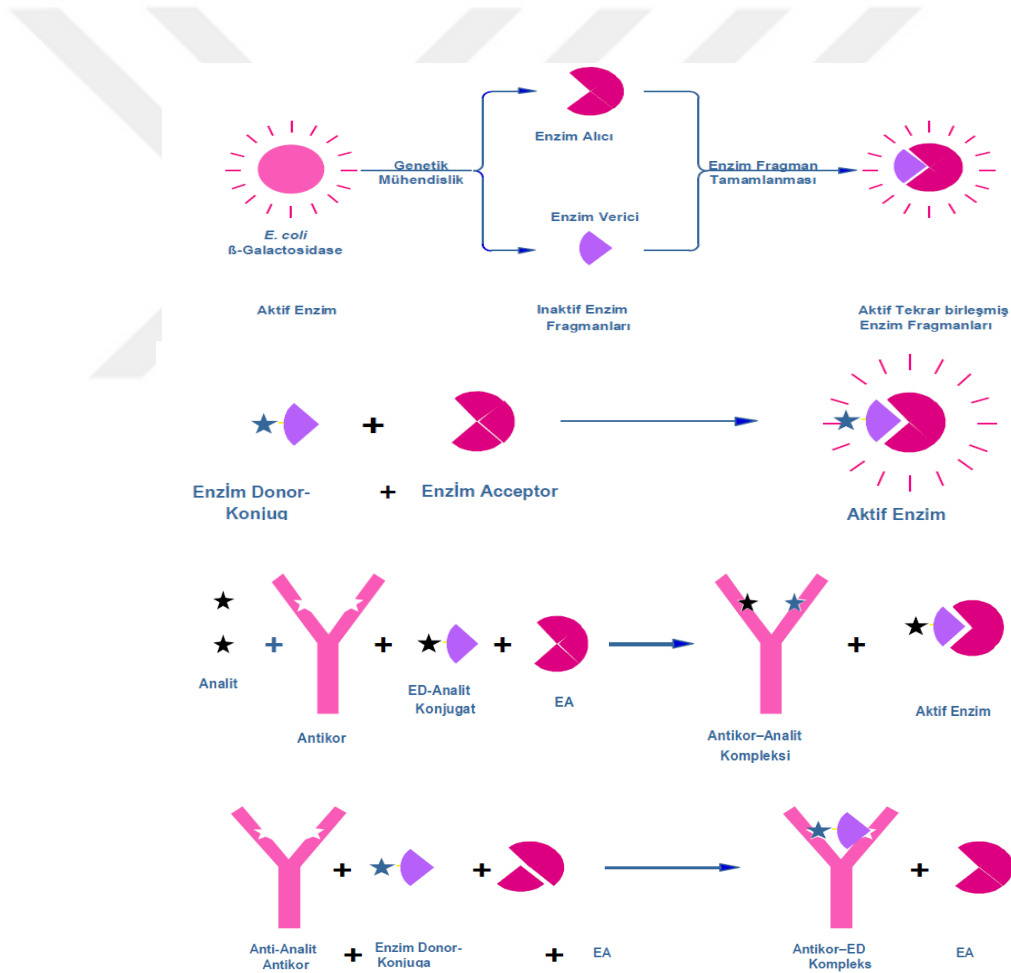
küçük miktar analitlerin ölçümü için uygulanırlar. Serbest Ag*’de bağlanmasının ayrışmasına ihtiyaç duymayan homojen yöntemlerin uygulanması daha kolay ve daha hızlıdır. Belirteçlerin enzim olduğu ELISA, kemilüminesan, flourometrik, kolorimetrik sinyaller oluşur (28). Enzimle olarak kullanıldığı homojen immunoassaylerde serbest ve bağlı antikor k farklı aktiviteler söz konusudur. Bu mekanizma EMIT ve CEDIA’nın temel

Enzimle Birleştirilmiş İmmunoassay Tekniği (EMIT); antikor ve enzimden oluşur. EMIT’de belirteç enzim G6PD’dır ve serbest iken aktif, analit (ilaç/madde) antikor kompleksi oluştuğunda inaktiftir. Aktif enzim ile reaksiyonu sonrasında kofaktör NAD’ı NADPH’a indirger. Sonuçta oluşan NADPH 340nm’ de izlenir. Burada serbest kısım sinyalden sorumludur. Bu nedenle dolayı denge fazında serbest enzim bağlı analit miktarı ile direkt konsantrasyonu arasında oran kurulur.

EMIT yönteminde enzim aktivitesinin artması veya azalmasına ölçüm yöntemiyle karar verilir. Enzim aktivitesinin azalması enzimin katalitik bölgesinin

değişim nedeniyle enzim işaretli antijene antikor bağlanmasını azaltması nedeniyle oluşur. EMIT’de enzim aktivitesi çalışılan örnekte antikor antijene (ilaç molekülü) bağlandığında, bir sonraki basamakta enzim substratı ile reaksiyon oluşurken, aksine örnekte ilaç yokluğunda enzim işaretli antijen ve reaktifteki antikor reaksiyonu oluşacağından sonraki basamakta substrat varlığında enzimatik reaksiyon oluşmayacaktır (28).

Klonlanmış Enzim Donör İmmünoassay (CEDIA) Beta galaktozidaz enziminin genetik mühendisliği temelinde üretilen iki ayrı inaktif parçası antijen ve antikor bağlantısı içinde miyarda bulunur. Bu antijen antikor reaksiyonu oluştuğunda aktif enzim ile kromojenik galaktozid türevi olan substrat etkileşimi ölçümün sinyalini oluşturur (27).



Şekil 8. Klonlanmış enzim donör immünoassayın şematik gösterimi

Madde veya metaboliti, enzim verici madde konjugatı ile anti-madde antikor bağlanma bölgesi için yarışır; komple, aktif beta-galaktozidaz molekülleri, ortamdaki

madde veya metabolitlerinin miktarına orantılı olarak oluşur, aynı zamanda substratın renk oluşturması da numune içindeki madde konsantrasyonu ile orantılıdır.

Oluşturulan enzim miktarı, o-nitrofenilbeta-d-galactopiranozid veya klorofenol red-beta-d-galactopiranozid gibi uygun bir enzim substratının hidrolizi ile izlenir.

İdrar veya serum numunesinde serbest ilaç veya ilaç metabolitinin olmaması durumunda, komple tetramerik betagalaktozidaz enzim formasyonu engellenir ve reaksiyon karışımına substrat eklenmesinden sonra hiç bir renk üretilmez (18).

Cedia teknolojisi diğer enzim immunoassay yöntemleri gibi 340 nm’de değil 570 nm dalga boyunda absorbans okunur. Bundan dolayı bulanık idrar veya hemaglobinden etkilenmez. Serum, tam kan, idrar ve postmortem kan numune olarak kullanılabilir. Teknik olarak arka plan reaksiyonu (gürültü) yoktur çünkü komple enzim yoktur; çok düşük ölçüm seviyelerinin saptanmasına izin verir. Gün içi ve günler arası tekrarlanabilirlik özelliği yüksektir. Lineer kalibrasyon eğrisi 4 haftalık stabilite ile kalitatif ve yarı-kantitatif ölçümlerin yüksek doğrulukla yapılmasına imkan sağlar. Kullanılan antikorların özgünlüğü ile çok daha az yalancı pozitiflik oranına sahiptir. İdrar pH’ı değişiminden etkilenmez (27).

2.2.2.1.Kart Testler

İmmünokromatografik kart testlerin isimlendirilmesi konusunda maalesef ortak bir dil bulunmamaktadır. Günlük hayatta kart test, immünokromatografik kart test, immünokromatografik test, kromatografik kart test, dip test, dip stik test, dip kart test, strip test, yanal akış testi gibi farklı adlar kullanılmaktadır. İlk kağıt tabanlı analitik prosedür kromatografi kağıdıdır. Halk arasında gebelik testi amacıyla kullanımının oldukça yaygınlaşması neticesinde ise immünokromatografik kart testler tüm dünyada oldukça popüler hale gelmiştir. Günümüzde gebelik testi dışında, uyuşturucu tarama testleri, gıda güvenlik testleri, mikrobiyolojik tanı testleri, toksin testleri, organ yetmezliği testleri, veterinerlikte hastalık teşhisi gibi birçok alanda yaygın bir şekilde kullanılırlar. Bu testler sağlık alanında da oldukça sık olarak kullanılmaktadır. Gelişmiş ülkelere kabul edilen bu test yönteminin daha kullanışlı ve güvenilir olabilmesi için Dünya Sağlık Örgütü’nün bazı kriterleri vardır: “ulaşılabilir, duyarlı, özgül, kullanımı kolay, kesin ve hızlı sonuç veren, cihaz gerektirmeyen, toplumda ihtiyaç duyulan” özelliklere sahip olmak şeklinde ifade edilebilir (26). İmmünokromatografik kart testlerin, bilinen kaset şekilleri dışında

kullanım amacına bağılı olarak geliştirilmiş farklı tasarımları da bulunmaktadır. Dip stik ve bardak testleri buna örnektir. Bu testlerin tıbbi tanı ve özellikle uyuşturucu tarama testi amaçlı olarak kullanımı oldukça yaygındır. Testler kişilerin idrarında yapıldığından, testin idrar içine daldırılması ile yapılan “dip stik” testler, “daldırma testi” ismiyle de bilinmektedir. Birden fazla şeridin yan yana eklenmesiyle, birçok maddeyi aynı anda analiz eden panel şekilleri de bulunmaktadır. Ayrıca kart test şeritlerinin bardak kapağına entegre edilmesi ile elde edilen “bardak test” şeklinde uygulamaları da bulunmaktadır (29). Günümüzde idrar ve tükürük için kart testler geliştirilmiş olup, ter ve saç için henüz böyle ürünler piyasada yer almamaktadır.



Şekil 9. Dip stik, Kaset Test ve Bardak Test Kullanım Şekilleri

Bu testlerin avantajları arasında yüksek duyarlılığa, güvenilir ve seçiciliğe sahip olmaları, üretiminin kolay olması, düşük maliyetli olmaları, testlerin tek olarak uygulanabilmesi, cihaza gerek duyulmaması, sahada gerçekleştirilebilmesi, raf ömrünün uzun olması, analiz metodunun kolay uygulanması ve özel eğitim gerektirmemesi, sonucun gözle görülebilir olmasıdır. Ayrıca uzman kişilere gerek duyulmaksızın herkes tarafından uygulanabilecek kadar kolay olması bu testlerin iş yerlerinde ve acil seviserde kullanılabilir kılmıştır. Dezavantajları ise tam kantitatif uygulamasının olmayışı, kullanıcılar arasında sonuçların yorumlanmasında farklılıklar olabilmesi, çok küçük örnek miktarının analizde yetersiz kalması, şerit başına tek bir analitin ölçülebilmesi ve sadece sıvı numuneler için kullanılabilmesidir (30),31).

İmmünokromatografik kart testlerin üstü plastik kaset kapak ile kapalıdır ve sadece numune damlatma alanı ile gözlem penceresi alanı açıktır. Bu nedenle sadece bu alanlar gözle görülebilir. Numune damlatma alanının hemen altında numune pedi bulunmaktadır ve damlatılan numune öncelikle bu pedde birikir. Numune, bu pedin sıvı tutma kapasitesinden fazla damlatıldığından sıvı bu pede temas eden konjugasyon pedine doğru ilerler. Konjugasyon pedinin üzeri kapalıdır ve renkli moleküller bu pedde bulunur. Konjugasyon pedine gelen sıvı numune buradaki moleküllerle reaksiyona uğrar, bu peddeki molekülleri de sürükleyerek buna temas eden nitroselüloz membrana doğru ilerler. Nitroselüloz membranın ilk kısmı örtülüdür, ancak daha sonraki test ve kontrol çizgisini içeren bölümünün üzeri açıktır; test sonucu buradan gözlemlenir. Nitroselüloz membrana gelen sıvı, içindeki molekülleri de sürükleyerek membran üzerinde kapiller akım kuvvetine göre membranın sonuna doğru ilerler. Bu sırada test çizgisi ve kontrol çizgisinde ilgili reaksiyonlar gerçekleşir ve buna göre test sonucunu belirten renkli çizgiler oluşur. Sıvı daha da ilerleyerek membranın sonuna temas eden atık pedinde birikir, bu alanın da üzeri kapalıdır. Tüm bu olaylar yaklaşık olarak birkaç dakika içinde gerçekleşir ve sonuç en fazla 5 dakika içinde okunabilir. Test sonucunu belirten çizgiler saatler boyunca değişmeden kalır. Pedler ve nitroselüloz membranın bütünlüğünü korumak için en alta bir plastik taban yerleştirilir ve tüm diğer parçalar bu plastiğin üzerine sabitlenmiş haldedir (29).

Testler genellikle tek olarak paketlenmiş haldedir ve uzun süre bozulmaması için paket içinde ayrıca bir nem alıcı madde (genellikle silika jel) bulunur. Numunenin kullanım şekline bağlı olarak çoğunlukla paket içinde veya ayrıca bir damlalık bulunabilir. Kullanım sırasında öncelikle paket yırtılarak açılır, numune sıvı değilse uygun şekilde sıvı hale getirilir. Kart testin numune damlatma alanında sıvı haldeki numune damlatılır. Dip stik testlerde damlatmaya gerek olmaksızın sıvı içine testin uç kısmının daldırılması yeterlidir. Teste uygulanan sıvının membranın sonuna kadar ilerlemesi gerekir. Aksi takdirde test geçersiz kabul edilir. Numune membranın sonuna kadar ulaştığında, membran yapısı gereği daha fazla numuneyi sürükleyemez. Yaklaşık olarak 1 dakika içinde kontrol çizgisi alanında çizgi belirtmeye başlar ve 5 dakika içinde bu çizgi net olarak oluşur. Herhangi bir nedenle kontrol çizgisi oluşmamışsa test geçersizdir ve başka bir paket açılarak test tekrarlanmalıdır. Test çizgisi alanında testin sonucuna göre çizgi oluşur ya da oluşmaz (29).

Testin üretim tekniğine göre çizginin varlığı pozitif veya negatif olarak değerlendirilir. Yarışmalı ve sandviç modellerin test sonuçları birbirine terstir, buna dikkat etmek gerekir. Sonucun nasıl yorumlanacağı testin plastik kaset kapağının üzerinde veya kullanım kılavuzunda mutlaka gösterilmiştir. İmmünokromatografik kart testlerin sonucunun yorumlanması için herhangi bir cihaz kullanım zorunluluğu yoktur, kullanıcının gözü bu işlevi yerine getirir. Bu durum da kullanıcılar arasında yorum farkı nedeniyle sonucun subjektif olarak yanlış yorumlanmasına neden olabilir. Doğru olan, test çizgisi alanında görülen çizginin çok silik bile olsa var olduğunun kabul edilmesidir. Çünkü üretim tekniği gereğince bu testlerde bir eşik değer uygulanır.

Kart testlerde, test çizgisi alanında nitroselüloz zemine sabitlenen molekülere göre, sandviç model ve yarışmalı model olmak üzere 2 farklı çalışma prensibi bulunmaktadır.

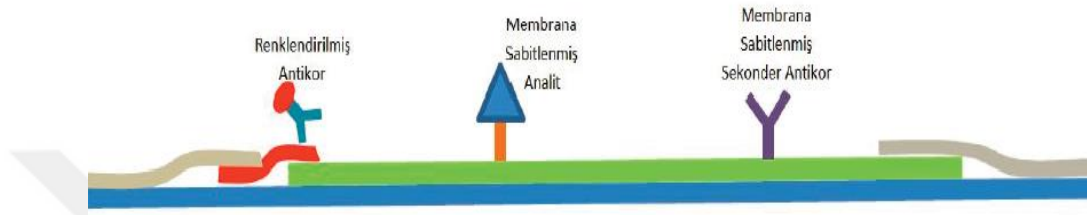
Sandviç Model (Konvansiyonel Model; Standart Model) sıklıkla kullanılan gebelik testleri bu modele göre üretilmektedir. Bu modelin uygulanabilmesi için, analitin birden fazla antijenik determinant bölgeye sahip olması şarttır. Genel olarak bu model, protein yapısındaki büyük moleküller için daha uygundur. Bu modelde konjugat pedinde, renkli molekül bağlanarak renklendirilmiş olan analite spesifik monoklonal veya poliklonal antikor bulunmaktadır. Bu antikorlar reaksiyon pedinde sabit değildir ve gelen sıvı numune ile beraber bu renkli antikorlar da test çizgisine doğru sürüklenir. Test çizgisi alanına ise yine analite özgü başka bir tür antikor sabitlenmiştir. Sandviç modelde, gözlem penceresinde çift çizgi görülürse sonuç pozitif; tek çizgi görülürse sonuç negatiftir (32).



Şekil 10. Sandviç Modeli

Yarışmalı modelde ise, sadece tek bir antijenik determinant bölgeye (antikor oluşturulabilen bölge) sahip ve sıklıkla küçük moleküler yapı analitler için daha

uygundur. Bu modelde konjugat pedinde renkli molekül bağlanarak renklendirilmiş analite özgü monoklonal antikor bulunur. Bu antikorlar sabit değildir ve gelen sıvı numune ile beraber bu renklendirilmiş antikorlar da test çizgisine doğru sürüklenir. Test çizgisi alanına ise, analiz edilmek istenen analitin kendisi sabitlenmiştir. Yarışmalı modelde, gözlem penceresinde tek çizgi görülürse sonuç pozitif; çift çizgi görülürse sonuç negatiftir. Bu özelliği ile anlatılan modeller birbirine ters şekilde sonuç verir ve pratik uygulama sırasında dikkat edilmesi gerekir (33).



Şekil 11. Yarışmalı Model

Kontrol çizgisinin çalışma prensibi her iki modelde de aynıdır ve testin geçerliliğini kontrol etmeyi sağlar. Membrana moleküllerin sabitlenmesi Kart testlerde, nitroselüloz membrandaki test çizgisine ve kontrol çizgisine bazı moleküllerin sabitlenmesi gerekmektedir. Kapiller akım sırasında bu moleküllerin hareket etmeden sabit olarak kalması sonucu, bu alanlarda renk oluşumu görülebilir. Bazı moleküller büyük protein yapısında oldukları için kendileri nitroselüloz membranda sürüklenmeden sabit kalabilmektedirler. Bu yapıdaki moleküllerde ayrıca bir yardımcı sabitleme molekülüne ihtiyaç duyulmaz. Ancak bazı moleküller küçük yapıdadır ve kapiller akım kuvvetiyle sürüklenirler. Bu moleküllerin sabit kalabilmesi için yardımcı büyük proteinler kullanılabilir. En sık kullanılan ajanlar albümin ve ovalbumindir (34). Bu ajanların nonselektif bağlanma bölgeleri nedeniyle, birçok molekülle bağ yapması mümkündür. Böylece, normal halde nitroselüloz membranda sabit kalamayan bir molekül, bu proteinlerle bağlandıktan sonra sabit olarak kalabilmektedir. Bunun yanında süktroz gibi bazı şeker molekülleri de kullanılabilir. Bu durumda membrana sabitlenecek olan molekül ile yardımcı sabitleme molekülünün bağ yapması öncelikle gereklidir. Bu bağ nonselektif olduğundan, çoğunlukla birkaç saat her iki molekülü aynı sıvı ortamında karıştırmayla sağlanabilir. Yardımcı molekül ile bağlanmış olan molekül nitroselüloz

membrana uygulandıktan sonra, 10 saat gibi uzun bir süre bekletilmesinin ardından membranda sabit olarak kalabilmektedir (29).

Her iki modelde kontrol çizgisinde renk oluşumu kart teste uygulanan numune miktarı yetersiz olursa test sonucu yanlış yorumlanabilir. Bunu engellemek için her teste kontrol çizgisi eklenir ve bu çizgi daima test çizgisinden daha ileriye yerleştirilir. Bu yerleşim nedeniyle, öncelikle numune test çizgisine ulaşır ve daha sonra kontrol çizgisine ulaşır. Böylece numunenin test çizgisine ulaştığından emin olunur. Her iki modelde de, sonucun pozitif veya negatif olmasına bağlı olmaksızın, kontrol çizgisinde her zaman renk oluşmalıdır. Bu çizginin görülmesi ile numunenin yeterli olduğu ve testin geçerli olduğu anlaşılır. Kontrol çizgisindeki renk oluşumu her iki modelde de aynı şekilde gerçekleşir. Kontrol çizgisinde nitroselüloz membrana bağlanacak antikor, test için kullanılan antikorun üretildiği hayvana göre değişiklik gösterir. Test için kullanılan ve konjugat pedinde bulunan antikorlar hangi hayvandan üretilmişse ve hangi tipte immünglobulin yapısına sahip ise, ona karşı başka hayvanda üretilmiş sekonder antikorlar kontrol çizgisine sabitlenir. Konjugat pedine, test çizgisine sabitlenen molekül sayısından çok daha fazla sayıda renkli antikor eklendiğinde, test çizgisinden artan antikorlar kontrol çizgisine gelerek burada renkli çizgi oluştururlar (30).

Yasadışı madde varlığını belirlemek için kullanılan, antijen antikorlar arasında gerçekleşen immunokimyasal tepkime esasına dayanan kart testlerin dünyada iş yeri madde testlerinde, trafikte ve acil servislerde kullanımı oldukça yaygındır.

2.2.3. Kromatografik Yöntemler

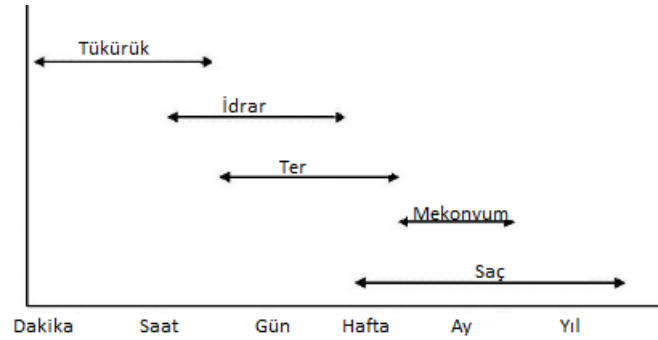
Doğrulama testleri için tanımlanan maddenin yapısına uygun olarak kromatografik analiz yöntemi (GC/MS, HPLC, LC/MS/MS vb.) seçilmelidir. Kromatografik yöntemler içinde genellikle kütle dedektörlü gaz (GC-MS) veya sıvı kromatografisi (LC-MS) seçilir ve günümüzde en çok tercih edilen teknik duyarlılığı ve seçiciliği ile ön plana çıkan ardışık kütle dedektörlü tekniklerdir. Bununla birlikte, nitel (kalitatif) tayin adli bilimlerde önemli olduğundan, örnek hazırlanması ve türevlendirilmesi işlemleri karmaşık olsa bile güvenilir olması sebebiyle GC-MS tekniği kullanılmaktadır (4).

Bu tekniklerle karmaşık yapıllı biyolojik örneklerin analize hazırlanmasında ise sıvı-sıvı ekstraksiyon (LLE) yanı sıra katı faza ekstraksiyon (SPE) ve katı faza mikro ekstraksiyon (SPME) tekniklerinden yararlanılır.

Tarama testlerine kıyasla daha geç sonuç verir, maliyetlidir ancak duyarlılığı ve seçiciliğı oldukça yüksektir.

2.3. Toksikolojik Analizlerde Kullanılan Biyolojik Materyaller

Madde kullanımının araştırıldığı laboratuvarlarda, yoğun ve güncel kullanımı olan madde ve metabolitlerinin biyolojik örneklerde tespit edebilmesi veya miktarının belirlenmesi hedeflenmiştir. Bir maddenin analiz edileceğı biyolojik örneğın belirlenmesinde, o maddenin farmakokinetiğının bilinmesi oldukça önemlidir. Örneğın alınma zamanı ve özellikle birkaç gün içinde kullanılan reçeteli ilaçlar ve yasadışı maddelerle ilgili beyanları, onam formları ile birlikte alınmalıdır. Ayrıca ilaçların metabolizmasında önemli rol oynayan karaciğer ve böbrek gibi organların fonksiyonlarını etkileyebilecek fizyolojik/patolojik durumların da kaydedilmesi önemlidir. Yasadışı madde analizleri idrar, kan gibi geleneksel biyolojik örneklerde ya da tükürük, saç, ter, nefes, mekonyum ve anne sütü gibi alternatif biyolojik örneklerde tespit edilebilmektedir (35).



Şekil 12. Farklı Biyolojik Materyallerde Yasadışı Madde Saptanma Aralıkları

Kullanılan maddeler kanı hızlı bir şekilde terk ettiğı için, **kan** örnekleri yakın zamanda kullanılan maddelerin analizinde tercih edilmektedir. Maddelerin kandan uzaklaşma süreleri “yarılanma ömrü” ile ifade edilmekte olup, maddelerin fizikokimyasal özellikleri ile yakından ilgilidir. Diğer biyolojik örneklerde de olduğu gibi kan örnekleri ile çalışmanın da bazı dezavantajları bulunmaktadır. Uzman bir

personel tarafından ancak steril bir ortamda toplanabilen kan örneklerinin toplanması sırasında HIV ile hepatit B ve hepatit C gibi hastalıkların bulaşma riski bulunmaktadır. Ayrıca, yapısında bulunan serum proteinleri, lipidler ve diğer büyük moleküler ağırlıklı bileşikler nedeniyle analiz öncesi ekstraksiyon yöntemleri idrar örneklerine göre daha zordur (7).

Saç örnekleri ile çalışmanın en önemli avantajı, kan ve idrar örnekleri ile tespit edilemeyen daha uzak geçmişe (aylar-yıllar önce) ait kronik madde kullanımı ile ilgili bilgi edinilebilmesidir. Saç türüne ve anatomik yapıya bağlı olarak ayda ortalama 0,6-1,4 cm uzar. Saç örnekleri toplanırken başın arka tarafından, homojen saç büyümesinin gözlemlendiği döner bölgedeki saçlar tercih edilir. Saçlar deriye yakın yerden bir makas yardımıyla kesilir, köke yakın olan uç işaretlenir. Yasadışı maddelerin uzun vadeli kullanımını ortaya çıkarmada segmentel saç analizi çok elverişlidir, saçın farklı kesimlerinde madde/metabolitlerin zamana dayalı profili çıkarılabilir. Kıl örneklerinde tespit edilen madde miktarı saç uzunluğu, kılın toplandığı vücut bölgesi ve kullanılan kimyasal maddeler gibi bazı faktörlere bağlı olarak değişebilmektedir (36).

Tükürükteki madde derişimleri kan plazmasında iyonlaşmadan kalan serbest kesimi yansıtır. Tükürük örneği ile yapılacak analizlerin avantajları, gözetim altında örnek alınabildiği için hileli girişimlere kapalı olması ve özellikle çocuklarda madde taramasına elverişli olmasıdır. Ayrıca, ağızdaki madde derişiminin doğrudan kandaki serbest madde derişimiyle orantılı olması ve maddelerin farmakolojik etkileriyle bağlantı kurulabilmesi için önemlidir. Ter ve idrara göre tükürük ve kan örnekleri zaman açısından en dar pencereye sahip örnek türüdür (36).

Ter, yasadışı maddelerin kullanımından sonra ter bezlerine geçişi kandan pasif difüzyon yoluyla olmaktadır ve buradan da deriye geçiş yapmaktadır. İyonlaşmayan bazik nitelikli maddeler tere karıştıktan sonra kana göre (pH 7,4) daha asidik (pH:5,8) olan bu ortamda iyonlaşabilir. İdrar örneklerinde daha çok polar metabolitler gözlenirken, ter örneklerinde ana moleküllere daha sık rastlanır. Ayrıca örnek toplamada kullanılan bu bantlar hileye açık olmadığından, adli olgular için oldukça önemlidir. Özellikle biriktirmeli örnek alma durumunda ana molekül ve metabolitlerinin daha geniş bir zaman aralığında kullanımına ilişkin bilgi verebilmekte, ancak düşük derişimdeki maddeler için yetersiz kalmaktadır. Bu nedenlerden dolayı ter analizleri nitel bir izleme yöntemi olarak değerlendirilmektedir (37).

Nefes, madde analizinde kullanılan kan, idrar, tükürük gibi biyolojik sıvılar; genellikle aranan madde dışında birçok bileşenin yer aldığı karmaşık bir matrikse sahipken nefesin ise daha az karmaşık bir yapı olması önemli bir üstünlüktür. Kolay olarak alınabilmesi, invaziv bir girişim olmaması, sağlık personeline ihtiyaç duyulmaması, örnek alınan kişide bir sağlık riski oluşturmaması, hilesel girişimlere fırsat vermemesi nedeniyle nefes örnekleri madde analizlerinde de son yıllarda tercih edilmeye başlanmıştır (38).

Yenidoğanlarda yürütülen analizler hamilelik sürecinde kadınların madde kullanımını belirlemek için yapılır. Bunun için **göbek kordonu, mekonyum, plasenta** gibi biyolojik örneklerde yasadışı madde analizleri çalışmaları yapılmaktadır (6).

2.3.1 İdrar

İdrar, kan bileşimini düzenlenmesi, endojen atık ürünlerinin, toksik maddelerin ve metabolitlerinin vücuttan atılımını sağlamaktadır. İdrar içindeki maddelerin derişimleri, kişilerin beslenme alışkanlıklarına, fiziksel aktivitelerine, vücut metabolizmasına ve endokrin fonksiyonlarına bağlı olarak değişebilmektedir (39).

Toksikolojik analizlerde maddenin kullanımını tespit etmek amacıyla kullanılan geleneksel biyolojik örneklerden biri de idrardır. İdrar, potansiyel toksik atık ürünlerin vücuttan uzaklaştırılması için böbrekte oluşan ve metabolik atıkların derişik bir çözeltisidir. Böbreklerin atılım fonksiyonu glomerüller plazmanın filtrasyonunu, tübüler lümeninden kana suda çözünen maddelerin taşınmasını (geri emilim) ve tübüler hücrelerden lümene madde taşınmasını kapsamaktadır. Sağlıklı bir kişide günde ortalama 187 L civarında filtrat oluşmaktadır, oluşan bu filtratın yaklaşık %1'i kadarı günlük idrar olarak vücuttan atılır (40).

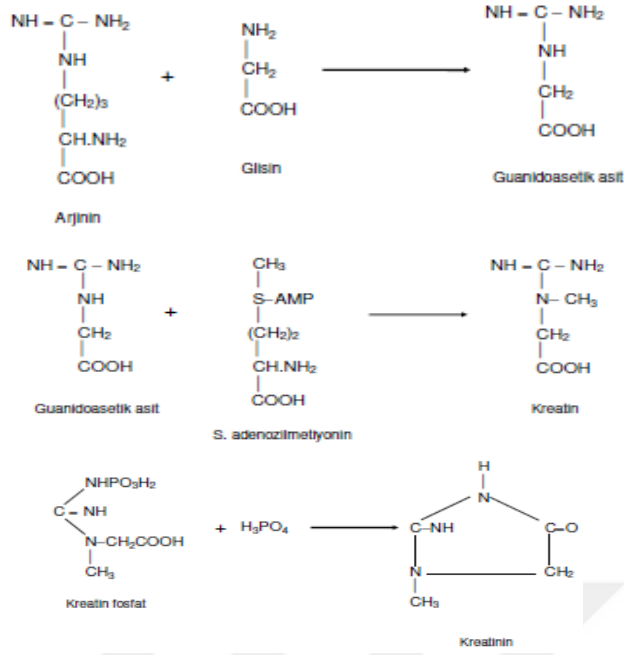
İdrar örneğinin en önemli avantajları, kullanılan maddelerin ve metabolitlerinin yüksek konsantrasyonda bulunması ve örnek toplama aşamasının kolay olmasıdır. Ayrıca, yapısında serbest serum proteinleri, lipidler ve diğer büyük moleküler ağırlıklı bileşiklerin bulunmaması toksikolojik analizleri kolaylaştırmaktadır. Kanda aranan maddenin tespit edilemediği durumlarda, idrarda o maddenin metabolitinin tespit edilmesi, maddenin yakın dönemde kullanıldığını göstermektedir. İdrar örneklerinde madde analizi doğrudan immünoassaylerle ya da spot testlerle yapılabileceği gibi uygun bir çözücü ile ekstraksiyondan sonra da yapılabilmektedir. İdrar pH'sı maddelerin atılımında önemli olabilmektedir. Amfetamin ve metadon

gibi zayıf bazık ilaçlar asidik idrarda; zayıf asidik özellikteki ilaçlar ise bazık idrarda daha etkili bir şekilde atılmaktadırlar (13). Bu nedenle, idrar alkali ise metabolize olmamış asidik maddelerin idrardaki miktarı büyük ölçüde azalacaktır. İdrar analizlerinin en önemli dezavantajı, analiz edilen maddenin uzun dönem maruziyeti hakkında bilgi alınamamasıdır.

Böbrek metabolizmasının görevlerinden biri olan protein metabolizması atık ürünlerin uzaklaştırılmasında üre, kreatinin ve ürik asit idrarla vücuttan atılır. Adli Toksikolojik analizlerde ve biyolojik yönden önemli bir parametre olan kreatinin; amino asitlerden yararlanılarak aslında protein niteliği taşımayan kreatin (metil-guanidoasetik asit) gibi azot taşıyan maddeden sentezlenir. Kreatinin fosforlu bir türevi olan kreatin fosfat kaslarda ADP'nin ATP'ye dönüşümünü sağlayan yüksek enerjili bir fosfat taşıyıcısı olarak görev yapar. Organizma kreatinin sentezinde başta glisin olmak üzere arjinin ve metioninden yararlanır. Öncelikle oluşan kreatin ATP'den fosforik asit almak suretiyle kreatin fosfatı meydana getirir. Fosfokreatin gerektiğinde fosforik asidini vererek halkalı bir bileşiği olan kreatinine dönüşür (41).

Tablo 3. Bazı maddelerin ve metabolitlerinin idrar örneklerinde tespit edilebilecekleri süreler

Madde	Süre	Madde	Süre
Amfetamin	2-3 gün	Kısa süre etkili barbitüratlar (siklobarbiton)	24 saat
Metamfetamin	48 saat	Uzun süre etkili barbitüratlar (fenobarbiton)	≥16 gün
MDMA	30-48 saat	Metadon	7-9 gün
Kokain	6-8 saat	Kodein/morfin	24 saat
Benzoilekgonin (kokain metaboliti)	2-3 gün	6-monoasetil morfin	2-4 saat
Kannabinoidler-tek doz	3 gün	Kodein glukuronid	3 gün
Kannabinoidler-kronik	36 gün	Dihidrokodein	24 saat
Fensiklidin	8 gün	Buprenorfin	48-56 saat



Şekil 13.Kreatinin Oluşumu



İnsanlarda kreatinin yapımı o kimsenin kas kitlesi ile doğru orantılıdır. Alınan besinsel azotla ilişkili değildir. Normal kişilerde serum kreatinin düzeyleri ve idrar kreatinin düzeyleri atılımı kas kütlelerinin bir göstergesidir. Kas kütle birimi başına kreatinin miktarı dolayısı ile kreatin yıkım hızı sabittir. Sonuçta plazma kreatinini derişimi hemen hemen hiç değişmemektedir. Kas kütlelerinin direkt bir göstergesi olduğu için serum kreatinin düzeyleri, erkeklerde kadınlara göre daha yüksektir. Kreatinin tübüllerden geri emilime uğramadığı için sabit bir miktarla idrarla vücuttan atılmaktadır (41).

2.4. Hile Katma Yöntemleri

Madde kullanımı olan kişiler idrar örneklerini verme aşamasında gerekli güvenlik önlemleri alınmadığında hile katma yöntemlerine başvurdukları bilinmektedir. İdrar örneği verme aşamasında yanlış negatif sonuçlar elde edebilmek için. Roger D. Weiss ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada internette “madde testini atlatmak” cümlesi aratıldığında 12 milyonun üzerinde sonuç bulduklarını bildirmiş ve gruplara ayırarak incelenmişlerdir. İdrara hile katma sonucu değiştirecek şekilde

madde katma, örneği seyreltme ya da örneği değiştirme şeklinde olduğunu belirtmiştir (5).

2.4.1. Örneğe Madde Katma

İngilizce’de “tampering” olarak literatürlerde yer alan kelime Osmanlıca olarak “tağşiş” karşılığı ile yer bulmuş, onay katmadan örneğe madde ekleme, bir şeyin içine başka bir madde karıştırma, katıştırma anlamına gelmektedir. Örnek toplama tamamlandıktan sonra dışarıdan bir madde eklenmesiyle idrar bütünlüğü bozulur. Bu şekilde dışarıdan eklenen maddeler immünolojik ya da doğrulama analizlerini engelleyecek şekilde hedef analiti maskeler. İnternette kolay erişimi olan bu maddeler farklı isimler ve içerikleri olan ürünler haline dönüşmüştür.

Bu maddelerden biri olan *gluteraldehit*; 1993 yılında bu amaçla kullanılmaya başlamış Clean-X, İdrar Yardım, Anında Temiz Sonuç gibi isimlerle internette kolaylıkla bulunabilmektedir. Gluteraldehit immunoassay analizlerine girişim yaparak absorbans oranını düşürdüğü, başta esrar olmak üzere kokain, morfin, amfetamin ile yanlış negatif sonuçlar verdiği tespit edilmiştir. *Nitrit*, 1996 yılında kullanılmaya başlanmış, “Klear”, “Whizzies” gibi isimlerle satılan bir üründür. Yapılan bir çalışmada immunoassay analizlerinde esrar, kokain metaboliti olan benzoilekgonin, morfin ve amfetamini başarılı bir şekilde maskeleydiği ancak GC/MS doğrulamasında esrar dışında diğer tüm maddelerin tespit edebildiği belirlenmiştir. PCC idrar örneklerinde hile maddesi olarak 1998 yılında “Urine Luck”, “Sweet Pea’s Spoiler” isimleri ile kullanılmaya başlanmıştır. Esrar, opiyat ve kokain ile immünolojik testlerde ve kart testlerde yanlış negatif sonuçlar verdiği belirlenmiştir. “Gizlilik” adıyla *peroksidaz* ve *peroksit* içeren ürünler Cedia immunoassay yöntemi ile esrar, LSD ve amfetamin türevleri ile yanlış negatif sonuçlar verdiği belirlenmiştir (42).

Evsel kullanımı olan maddelerden *çamaşır suyu* en etkili maskeleyici ajanlarından biridir. Birçok immunoassay tekniği ve GC/MS doğrulama analizlerinde yanlış negatif sonuçlar verdiği tespit edilmiştir. Düşük derişimlerde dahi esrar, amfetamin, barbibüuratlar, benzodiazepin, kokain, opiyatların tayininde girişim yaptığı belirlenmiştir. Seyreltik asetik asit içeren *sirke* ise esrar ve amfetamin tayininde girişim yaptığı, düşük pH oluşturması nedeniyle kart testlerde etkili bağlanma, tepkime süresi ve madde çözünürlüğü gibi sorunlar ortaya çıkardığı belirlenmiştir. *Göz damlalarının* aktif maddesi olan tetrahidrozolin göz kızarıklık ve tahriş tedavi için kullanılan bir ilaçtır, ancak içerisindeki aktif olmayan

benzalkinyum klorür ve borat maddeleri hilesel girişim olarak idrar örneklerine eklendiği tespit edilmiştir. Pek çok farklı immunoassay tekniği ile benzalkinyum klorür maddesinin idrarda esrar tayininde güçlü bir girişim yaptığı belirlenmiştir. *Lavabo açıcı* olarak kullanılan ürünlerin içerisinde kuvvetli bir baz olan sodyum klorür örnek pH'ını değiştirerek analize girişim yapar, CEDIA, EMIT, RIA yöntemlerinde yanlış negatif sonuçlar vermeye neden olur. *Deterjan ve sabunlar*, immunoassay yöntemleri ile yapılan analizlerde yanlış negatif ve yanlış pozitif sonuçlara neden olduğu yapılan çalışmalarla belirlenmiştir. Amonyak, sodyum klorür, aspirin (asetilsalisilik asit), ibuprofen, B2 vitamini gibi maddelerin yanlış negatif sonuçlar vermeye neden olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (43).

2.4.2. Örneği Seyreltme

Örneğin seyreltilmesi pozitif bir sonucun negatif çıkması için sıklıkla başvurulmuş basit bir yoldur. Örneğe dışarıdan sıvı eklenebileceği, aşırı miktarda sıvı tüketilmesi ya da diüretik ilaç kullanılması, bu amaçla satılan ürünlerin içilmesi örneği seyreltmek için kullanılabilir (5).

Yapılan bir çalışmada, esrar ve kokain pozitif olan kişilerin satılan çay içerikli ürünleri bol su ile tüketilmesi ve yalnızca su tüketmesi ile idrar örnekleri analizi yapılmış, tüketim sonrasında madde sonuçları cut off altında bulunmuştur. Ancak kişilerin kreatinin ve yoğunluk değerleri de normal değerler dışında saptanmıştır. Bunu önlemek içinde kreatinin ve riboflavin içeren ürünler tüketerek normal kreatinin ve idrar rengine ulaşmak için ürünler kullandıkları bilinmektedir. EWDTS rehberine göre (44); ölçülen kreatinin derişimi 2.0 mmol/L (226 mg/l)'den küçük veya eşitse, yoğunluk değeri ölçülmeli, ölçülen yoğunluk 1.001 -1.020 aralığında ise örnek kabul edilebilir.

- i. Kreatinin derişimi 0.5-2.0 mmol/L (56 -226 mg/l) aralığında ise, yoğunluk değeri normal aralıkta ise “örnek seyreltik” olarak rapor edilmelidir.
- ii. Kreatinin ölçüm sonuçları 0.5 mmol/L (56 mg/l)'den küçük veya eşitse ya da yoğunluk sonuçları normal aralıkta değil ise “örnek bütünlüğü sağlanamamıştır” raporu düzenlenmelidir.

İdrarla atılan madde - kreatinin oranı ile yapılan normalizasyon işlemi ile seyrelmeden kaynaklı yanlış negatif sonuçların önüne geçilebilir.

2.4.3. Örneği Değiştirme

Örnek değiştirme için kullanılacak “temiz” idrar örneği satılan bir ürün ya da madde kullanmayan bir kişiden alınan idrar örneği ile yapılabilir. Bu şekilde verilen idrar örnekleri idrar bütünlük testlerinden geçebilir ancak örnek alımındaki personeli aldatmaya yönelik şüpheli hareketleri ve verilen idrar örneğinin sıcaklığı bu hile katma yöntemi kendilerini ele verir. Örnek değiştirme için başvurulacak yöntemlerden biri, kişinin kış aylarında ellerini sıcak tutmak için kullandıkları plastik bir ürünü kondom şeklinde içine temiz idrar konarak genital bölgesine yerleştirmiş ve örnek vermek işlemi sırasında plastiğin ucunu hafif tırnaklayarak düzgün bir idrar akışı sağladığı, verilen örneğin ise uygun sıcaklıkta olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca hazır olarak satılan takma penis şeklinde olup, beş farklı renk tonuna sahip ürünlerde mevcuttur. Bu ürünlerin kullanımı tespit etmek zordur, kullanıcılar kaba etleri arasında kama şeklindeki bir kap içerisine sıcak idrarı koyar ve örnekleme zamanında, üretra açıklığına yakın yerleştirilen bir tüpten örnek veren olgular tespit edilmiştir. Farklı bir ürün olan “Urinator” adlı üründe ise, vücut sıcaklığını muhafaza etmek için elektronik bir ısıtma ünitesi ve üretra yakınında yerleştirilen plastik tüpün sarılı olduğu bir bükülebilen plastik bir kap kullanılmaktadır. Harici olarak idrar depolamaya alternatif olarak, mesane içinde idrar ikame de bir seçenektir. Bu teknikte, kişinin, mesane ve idrar yolu üzerinden temiz idrar ile doldurmak için bir kateter kullanılır (5).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma, etik kurul onayı alındıktan sonra (Etik Kurul Tarih:19.09.2013 Karar No: 13-7/1) 2015 yılı içerisinde Ege Üniversitesi Madde Bağımlılığı, Toksikoloji ve İlaç Bilimleri Enstitüsü Bağımlılık Toksikolojisi Laboratuvarına başvuran olgulardan alınan idrar örneklerinde; örneğe müdahale için, örneğin seyretilmesi, örneğe hile katma ajanları ve örnek değiştirme sırasında yapılan girişimlerin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmanın evreni 2015 yılında Ege Üniversitesi Madde Bağımlılığı Toksikoloji ve İlaç Bilimleri Enstitüsü’ne başvuran 5709 madde bağımlılığı olgularının idrar analiz sonuçları olarak belirlenmiştir. İdrar örneğine yapılabilecek olası hilesel girişimler 3 başlık altında toplanır bu nedenle araştırmanın örnekleme de üç parça olarak ele alınmıştır.

3.1. Kullanılan Kimyasal Madde, Araç ve Gereçler

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Sodyum hipoklorit içeren Çamaşır Suyu (Domestos), %4-5 Asetik Asit içeren Elma sirkesi (Tariş), 0,1 mg benzalkonyum klorür içeren Göz Damlası (Flarex-Alcon), %90±2 NaOH, %10±2 Na₂CO₃ içeren Lavabo Açıcı (Pro-5) yerel marketlerden temin edilmiştir.

KOH (Sigma Aldrich) örneklerin ekstraksiyon aşamasında kullanılmak üzere alınmıştır.

3.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

Intect 7 İdrar Bütünlük Test Stibi (Branan Medical Corporation), QuickTox Drug Screen (Branan Medical Corporation), Euphratest (Shanghai Chemtron Biotech Co. , Ltd.) temin edilmiştir. İmmunoassay yönteminde kullanılan kitler Multi Level THC, Amfetamin/Ekstazi ve Sample Check parametreleri CEDIA; MDMA, Kreatinin ise EMIT teknolojisi ile üretilen Thermo Scientific firmasından alınmış, MGC 240 cihazında analizler yapılmıştır. Tüm örneklerin Thermo Scientific™ Orion™ Star A211 pH metre ile ölçümleri yapılmıştır. Toxi Tube A ve azot uçurucu ve ısıtma sistemi (Thermo, TS-18823) örneklerin doğrulama aşamasında kullanılmıştır.

3.2. Yöntem ve Deneyler

Ege Üniversitesi Madde Bağımlılığı, Toksikoloji ve İlaç Bilimleri Enstitüsü Bağımlılık Toksikolojisi Laboratuvarına Adalet Bakanlığı'nın yönlendirmiş olduğu Denetimli Serbestlik olguları, hastanemizin Çocuk Hastanesi, Acil Servis Anabilim Dalı, Psikiyatri Anabilim Dalı, Anestezi Anabilim Dalı gibi pek çok servisten yasadışı madde ve etil alkol analizleri için örnekler kabul edilmektedir.

Laboratuvarımızın örnek hazırlama, ön tarama 1 ve 2, analitik laboratuvarı, örnek toplama ve örnek saklama birimi olmak üzere enstitümüzün zemin katında hizmet vermektedir.

3.2.1. Örnek Toplama

Bu araştırma kapsamında kullanılan, laboratuvarımızda rutin olarak uygulanan ve dünyaca kabul edilen “SAMSHA İdrar Örneği Toplama Rehberine” uygun işleyen örnek toplama aşamasında, gerekli eğitimleri almış özel bir personel ve güvenlik görevlisi tarafından yapılmaktadır. Güvenlik aramasından geçen kişi örnek toplama alanına alınır. Bu alanda; tuvalet, örneklerin laboratuvara teslim edilinceye kadar bulunacağı güvenli dolaplar, personele ait dokümanlar bulunmaktadır. Örnek toplama için kullanılan tuvalet tek kişilik, bireysel gizliliği sağlayan bir alanda ve örnek veren kişinin yüzünü hedefleyen bir video kayıt sistemi mevcuttur. Tuvalet sifon rezervuarı içerisinde örneği seyrelme için kullanılması mümkün olmayan mavi boya kullanılmaktadır. Örnek toplama tuvalet bölümü içerisinde lavabo, sabun, deterjan gibi ajanlar bulunmaz, el yıkama işlemi örnek toplama tamamlandıktan sonra yapılmasına izin verilir. İdrar örneği tek kullanımlık, şeffaf, temiz, içi görünen bir kap içerisine en az 30 ml alınır. Sıcaklık kontrolü 4 dakika içerisinde yapılır ve uygun değil ise kaydedilir. Sıcaklığın 32°C - 38°C aralığında ise geçerli kabul edilir. Örnek toplama işlemi tamamlandıktan sonra idrar kabı kapağına ve kabın üzerine kişiye ait barkod yapıştırılır, laboratuvara teslim edilmek üzere örnekler uygun kapalı kap içerisinde güvenli bir bölge de bekletilir. Onam formu üzerine örneği alınan kişinin adı, soyadı, örnek alma tarihi ve saati ve örneği alınan kişinin adı soyadı mutlaka yazılır ve imzalatılır. Örneklerin laboratuvara karşılıklı kontrollü ile teslim edilir (45).

Laboratuvara gelen her idrar örneğine uygulanması gereken idrar bütünlük testlerinin pratikte uygulanması; test şeritleri idrar örneğinin içine daldırılarak yüzey tamamen idrarla temas etmesi sağlanır. Şerit çıkarılır ve kurutulur. Intect 7 İdrar Bütünlük Testi 1 dakika içinde okunmalıdır. Şeritlerin içerisinde bulunduğu test kutusu üzerinde göstergeler yer alır. Şerit üzerindeki renkler referans renklerle karşılaştırılarak sonuca karar verilmelidir.

3.2.2. Örneğe Madde Katma Analizleri

Yasadışı madde tarama sonuçları Δ^9 -THC-COOH, AMP ve MDMA pozitif olarak raporlanan denetimli serbestlik olgularının idrarları kullanılmıştır. Metabolik bir hastalığı olmayan, son 72 saat içerisinde herhangi bir ilaç ya da bitkisel bir ürün/çay tüketmediğini beyan eden olguların örnekleri çalışmaya dâhil edilmiştir.

Ülkemizde $\Delta 9$ -THC-COOH için 50 ng/ml, AMP için 1000 ng/ml, MDMA için 500 ng/ml olarak sınır değerleri göze alınarak olgulardan alınan örneklerden bu değerlere yakın idrar havuzu oluşturulmuştur. Bu havuzun değerleri ise, $\Delta 9$ -THC-COOH için 58 ng/ml, AMP için 1261 ng/ml, MDMA için 511 ng/ml Olypmus AU640 cihazı ile (n=3) ölçülmüştür. Hazırlanan havuzun idrar bütünlüğünü sağladığı görülmüştür. Oluşturulan havuzundan alınan 5'er ml'lik idrar örnekleri içerisinde derişimi,

- %0,1, %1, % 10 çamaşır suyu (v/v),
- %1, %2, %10 ve % 20 sirke (v/v),
- %1, %2 ve %30 göz damlası (v/v),
- %0,2, %2 ve %20 lavabo açıcı (w/v) olacak şekilde evsel hile ajanları

eklenmiş ve örnekler hafifçe çalkalanmıştır. Örnekler üzerine yapılan kodlamalar sonrasında evsel hile ajanları eklenip sıraları karıştırılmıştır.

Hile eklenen her örnek (n=26) fiziksel özellikleri (koku ve görüntü), Intect 7 test stribi, QuickTox Drug Screen ve Euphratest kart testleriyle iki kişi tarafından sonuçlar okunmuş ve kaydedilmiştir. pHmetre, MGC 240 immunoassay cihazı ile tüm örnekler analiz edilmiştir.

3.2.3. Örneği Seyreltme Çalışması

Laboratuvara kabul edilen tüm idrar örneklerine; örnek kabulünden sonra test stripleri ile hile katma yöntemleri araştırılır, normal aralıklar dışında çıkan sonuçlar kaydedilir. Daha sonra immunoassay ile ön tarama yapılır ve sonuçlar Laboratuvar Bilgi Yönetim Sistemi (ALIS) üzerinden onaylanır.

2015 yılında laboratuvarımızda yasadışı madde taraması için başvuran olguların sonuçları ALIS üzerinden taranmış, test stribi ve immunoassay cihazı ile yapılan analizler sonrasında “örnek seyreltilmiştir” (Bölüm 2.4.2.'de bahsedildiği üzere) sonucu çıkan olanların sonuçları dikkate alınmıştır. Elde edilen veriler SPSS For Windows 16. 0 istatistik programına aktarılarak değerlendirilmiştir.

3.2.4. Örneği Değişirme Çalışması

Örneği değişirme yoluna başvuran kişilerin sayısı ve kullandıkları yöntemler örnek toplama personeli tarafından tutulan tutanaklar incelenerek belirlenmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Örneğe Madde Katma

4.1.1. Fiziksel Bulgular

% 10 (v/v) çamaşır suyu eklenen örneklerin (%7,7) koyu sarı, ağır çamaşır suyu koktuğu ve köpüklü olduğu gözlenmiştir.

% 20 (v/v) sirke eklenen örneklerin (%7,7) hafif sirke koktuğu sadece bir araştırmacı tarafından tespit edilmiştir.

%0,2, %2 ve %20 (w/v) lavabo açıcı eklenen örneklerde (%23) askıda çözünmemiş katı maddeler olduğu, %30 (v/v) Flarex göz damlası eklenen örneklerde (%7,7) ise bulanıklık olduğu gözlemlenmiştir.

4.1.2. İdrar Bütünlük Strip Testi ve pH Çalışma Sonuçları

Intect 7 strip test stribi ile yapılan çalışmada hile katılmış örnekler ve kör örneklerin idrar bütünlük testleri ve pH ölçümleri yapılmıştır. Tablo 4'te ayrıntılı sonuçlar görülmektedir, ayrıca tabloda yer almayan kreatinin ve nitrit değerleri tüm örnekler için normal değer aralığında olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4. İdrar Bütünlük Strip Testi ve pHmetre Çalışma Sonuç Tablosu

	pH ¹	İdrar Bütünlük Testi Parametreleri				
		pH ²	Yoğunluk	Ağartıcı	Gluteraldehit	Pridinyum Klorokromat
Havuz (Kör)	6,23	Normal (4-10)	1.005	Normal	Normal	Normal
% 0,1 (v/v) Çamaşır suyu	6,25	Normal (4-10)	1.005	Normal	Normal	Normal
% 1 (v/v) Çamaşır suyu	6,35	Normal (4-10)	1.005	Normal	Normal	Normal
% 10 (v/v) Çamaşır suyu	7	Normal (4-10)	1.003	Anormal	Normal	Anormal
% 1 (v/v) Sirke	5,95	Normal (4-10)	>1.020	Normal	Normal	Normal
% 2 (v/v) Sirke	5,5	Normal (4-10)	>1.020	Normal	Normal	Normal
% 10 (v/v) Sirke	4,37	Anormal (2-3)	>1.020	Normal	Normal	Normal
% 20 (v/v) Sirke	4	Anormal (2-3)	>1.020	Normal	Normal	Normal
% 0,2 (w/v) Lavabo Açıcı	10,12	Normal (4-10)	1.000	Normal	Normal	Normal
% 2 (w/v) Lavabo Açıcı	12,79	Normal (4-10)	1.000	Normal	Normal	Normal
% 20 (w/v) Lavabo Açıcı	12,82	Normal (4-10)	1.000	Normal	Anormal	Normal
% 1 (v/v) Göz Damlası	6,4	Normal (4-10)	1.005	Normal	Normal	Normal
% 2 (v/v) Göz Damlası	6,34	Normal (4-10)	1.005	Normal	Normal	Normal
% 30 (v/v) Göz Damlası	6,25	Normal (4-10)	1.005	Normal	Normal	Normal

1: pHmetre ile yapılan ölçümler

2: Intect 7 idrar bütünlük strip testi ile yapılan ölçümler

4.1.3. Kart Test Çalışma Sonuçları

Farklı iki marka kart test ile yapılan çalışmada sonuçlar Tablo 5’te görülmektedir. (DP: Doğru Pozitif, YN: Yanlış Negatif anlamına gelmektedir.)

Tablo 5. Hile Katılmış Örneklerde Kart Test Çalışması Sonuçları

	QUICKTOX DRUG SCREEN KART TEST		EUPHRATEST	
	$\Delta 9$ -THC-COOH	AMP	$\Delta 9$ -THC-COOH	AMP
Havuz (Kör)	DP	YN	DP	YN
% 0,1 (v/v) Çamaşır suyu	DP	YN	DP	YN
% 1 (v/v) Çamaşır suyu	DP	YN	DP	YN
% 10 (v/v) Çamaşır suyu	YN	YN	YN	YN
% 1 (v/v) Sirke	DP	YN	DP	YN
% 2 (v/v) Sirke	YN	YN	DP	YN
% 10 (v/v) Sirke	YN	YN	YN	YN
% 20 (v/v) Sirke	YN	YN	YN	YN
% 0,2 (w/v) Lavabo Açıcı	DP	YN	DP	YN
% 2 (w/v) Lavabo Açıcı	HATA	HATA	HATA	HATA
% 20 (w/v) Lavabo Açıcı	HATA	HATA	HATA	HATA
% 1 (v/v) Göz Damlası	YN	YN	DP	YN
% 2 (v/v) Göz Damlası	DP	YN	DP	YN
% 30 (v/v) Göz Damlası	DP	YN	DP	YN

4.1.4. İmmunoassay Çalışma Sonuçları

Hile katılmış ve örnekler MGC 240 cihazı ile belirlenen parametreler çalışılmış ve sonuçları Tablo 6’da görülmektedir.

4.1.5. Gaz Kromatografi / Kütle Spektrometresi Çalışması

Laboratuvarımızda rutin olarak uyguladığımız GC/MS ile doğrulama aşamasında; idrar örneklerinden 2 ml alınır, 1 ml 1 M KOH ile bazik hidroliz yapılır ve Toxi Tube A ile sıvı-sıvı ekstraksiyon yapılır. 1 ml organik faz temiz bir tüpe aktarılır ve çözgen uçurulur. Tayin edilecek metabolite yönelik uygun türevlendirici ajan seçilir ve uygun şartlarda türevlendirme aşaması tamamlanarak örnekler GC/MS’e enjekte edilir.

Hile katılmış örnekler hidroliz aşamasını tamamlamış ancak ekstraksiyon aşamasında alınan 1 ml organik fazın pH değerleri ölçüldüğünde çamaşır suyu ve lavabo açıcı eklenen örneklerin pH değerleri 12.05 - 13.67 aralığında kaydedilmiştir. Sirke ve göz damlası eklenen örneklerde ise uçurma aşamasından

sonra tüplerin dibinde büyük, sarı tortular olduğu gözlenmiş, türevlendirme için kullandığımız ajanlar ile çözünmemiş ve örnekler cihaza verilememiştir.

Tablo 6. İmunoassay Çalışma Sonuçları

	Δ^9 -THC-COOH (ng/ml)	AMP (ng/ml)	MDMA (ng/ml)	Sample Check (%)	Kreatinin (mg/dl)
Havuz (Kör)	58±1,14	1261±55,15	511±1,41	94,5±0,70	119,05±0,77
% 0,1 (v/v) Çamaşır suyu	60,5±3,53	>5000	532,5±3,53	93±2,82	120,85±0,07
% 1 (v/v) Çamaşır suyu	52±4,24	>5000	569,5±9,19	90,5±0,70	121,15±1,60
% 10 (v/v) Çamaşır suyu	0	0	656,5±9,19	0	121,15±1,06
% 1 (v/v) Sirke	56±4,24	1507±294,15	504±4,24	95±0,0	118,95±1,76
% 2 (v/v) Sirke	62±9,89	1275,5±168,99	506,5±7,7	96,5±2,12	120,75±2,89
% 10 (v/v) Sirke	59±1,41	998±47,37	421,5±3,53	97±1,41	103,8±0,98
% 20 (v/v) Sirke	59,5±13,43	1289,5±149	460±73,54	95,5±0,7	111,9±9,61
% 0,2 (w/v) Lavabo Açıcı	53±1,41	2092,5±9,19	513,5±9,19	95,5±2,12	123,55±1,06
% 2 (w/v) Lavabo Açıcı	51,5±10,6	767,5±149,9	0	66,5±12,02	114,95±1,48
% 20 (w/v) Lavabo Açıcı	31,5±2,12	0	0	HATA	84,8±0,42
% 1 (v/v) Göz Damlası	66±1,41	1694±241,48	509±3,53	94±0,0	119,7±0,28
% 2 (v/v) Göz Damlası	65,5±4,94	1694±241,83	517±1,41	94±0,0	119,2±1,27
% 30 (v/v) Göz Damlası	65±2,82	1668,5±226,98	489,5±2,12	94,5±0,70	114,05±1,20

4.2. Örneği Seyreltme

Laboratuvarımızda 2015 yılında **5709** denetimli serbestlik olgusunun idrar örneklerinde yasadışı madde taraması immunoassay cihazı ile yapılmıştır. ALIS sisteminden olguların yaşları, madde sonuçları ve kreatinin değerlerine ulaşılmıştır.

Olguların yaş ve idrarla vücuttan atılan kreatinin arasında ilişki olup olmadığı araştırılmıştır. Laboratuvarımıza başvuran olguların yaşları incelendiğinde 28,66±8,81 olduğu, en genç kişinin 18, en yaşlı kişinin 73 yaşında olduğu tespit edilmiştir.

Laboratuvarımız için ortalama kreatinin değeri hesaplanmış ve kabul edilebilir sınırlarda (20-300 mg/dl) olan olgular için 155,94±84,26 olarak bulunmuştur. 5709 veri için Non-parametrik bir analiz olan Pearson Momentler Çarpımı Korelasyon Tekniği kullanılmış ve kreatinin-yaş arasında güçlü bir ilişki bulunmuştur (r = -0,63, p<.01).

Analiz öncesi yapılan idrar bütünlük testlerinde Intect7 test stribi ile %2.48 (n=142) örneğin kreatinin değeri 0-10 ve 10-20 arasında bulunmuştur.

Örneklerin %2.15'inde (n=123) immunoassay ve Intect7 test stribi ile paralel şekilde kreatinin değeri 20 mg/dl altında bulunmuştur.

Bu örneklerin %8.94'ünün yoğunluk değerleri normal sınırlar içerisinde olduğu yani "örnek seyreltik" olarak tespit edilen olguların analiz sonu değerleri normalize edilmiştir.

$$\text{Normalize Sonuç} = \frac{\text{Ölçülen Madde x Lab.Kreatinin Ort.}}{\text{Ölçülen Kreatinin}}$$

Ölçülen Madde: Ön tarama ile ölçülmüş yasadışı madde değeri (ng/ml)

Ölçülen Kreatinin: Ön tarama ile ölçülmüş kreatinin değeri (mg/dl)

Lab. Kreatinin Ort. : 2015 yılı için hesaplanmış kreatinin ortalama değeri (mg/dl)

Tablo 7. İdrar Bütünlüğü Sağlayan ve Kreatinin Değerleri <20 mg/dl Olan Olguların Normalizasyon Tablosu

Olgu No	Kreatinin (mg/dl)	Δ9-THC-COOH (ng/ml)	Normalizasyon Sonucu Δ9-THC-COOH (ng/ml)
1	18	25	215,28
2	13	37	441,15
3	10	12	186,00
4	18	12	103,33
5	19	28	228,42
6	15	23	237,67
7	10	9	139,50
8	15	17	175,67
9	18	14	120,56
10	13	6	71,54
11	13	27	321,92

11 örnek GC-MS ile analiz edilmiş ve sonuçları 15 ng/dl saptama alt sınırına göre pozitif olarak raporlanmıştır.

4.3. Örneği Değiştirme

2015 yılında örnek toplama biriminde sahte idrar örneği vermeye teşebbüs eden 10 kişi hakkında tutanak tutulmuştur. Tutanaklar incelendiğinde, “temiz” idrar örneğinin şırıngaya, naylon balon içerisinde, plastik kolonya şişelerine konarak örnek verme yollarına başvurdıkları tespit edilmiştir. Karın bölgesine serum şişesi içerisine “temiz” idrar örneği yerleştirilip, koltuk altından pompa ile normal idrar akışı sağlanmaya çalışılmış ancak örnek toplama personeli tarafından şüpheli hareketleri sonucu ayrıntılı arama ile hilesel girişimi tespit edilmiştir.

5. TARTIŞMA

Yasadışı madde kullanımı dünyada olduğu kadar ülkemizde için de büyük bir sorundur. Avrupa Uyuşturucu ve Uyuşturucu Bağımlılığı İzleme Merkezi (EMCDDA) 2015 raporuna göre, yasadışı madde ile ilgili suç istatistiklerinde esrarın büyük rol oynadığı Avrupa’da 1,25 milyon yasadışı madde kullanımı suçlarının %68’i esrar kullanımı ile ilgili olduğu belirtilmiştir (46). Ülkemizde ise Türkiye Uyuşturucu Ve Uyuşturucu Bağımlılığı İzleme Merkezi (TUBİM) tarafından 2011 yılında yapılan araştırma ile yaşam boyu madde kullanım oranının %2,7 olarak saptanmıştır. Genç nüfusta yapılan bir çalışmada ise madde kullanımı olan kişilerde %84,1 ile esrar ilk, %32,9 uçucular ikinci, %22,7 ile uyarıcılar üçüncü sırada yer almaktadır (47). Ülkemizde esrar ve uyarıcıların (amfetamin ve türevlerinin) yaygınlığını gösteren bu veriler, bu maddelerin saptanmasına yönelik yapılan adli toksikolojik analiz verilerinin önemini ortaya koymaktadır. Çalışmamızda ülkemizde yaygın olarak kullanılan Δ^9 -THC-COOH ve AMP türevlerini içeren örnek havuzu kullanılması tercih edilmiştir.

Yaygınlığı oldukça fazla olan bu uyuşturucu ve uyarıcı maddelerin tespiti konusunda iş yerlerinde, trafikte, denetimli serbestlik uygulamalarında yasalarımızca cezai süreçleri belirtilmiştir. Ancak; bu yasalara bağlı yönergelerde madde analizlerinin bir rehberi ya da standardı için çalışmalar çok yakın zamanda başlatılmış olup, henüz devam etmektedir. Çalışmamızda elde edilen verilerin bu rehberlerin oluşturulmasında katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Analiz edilecek parametrelerin sayısı, idrar bütünlüğü ya da örnek toplama sürecinde kişinin uygunsuz/olumsuz davranışları karşısında ne yapılması gerektiği belirsizdir. Avrupa ve Amerika’da uzun zamandır bu analizler için örnek toplama,

analiz, kalite kontrol için pek çok rehberler yayınlanmıştır. Paralel şekilde, alınan önlemler karşısında örnek verecek olguların birbirleri ile bilgi paylaşımları özellikle internet ortamında zamanla artmıştır.

2.3.1.bölümde bahsedildiği üzere idrar örnek alımı kolay, yapısının karmaşık olmaması, metabolitlerin uzun süre ve yüksek miktarda saptanmasına gibi avantajları nedeniyle yasadışı madde taramalarında çoğunlukla tercih edilen biyolojik materyaldir. Ancak idrar örnekleriyle çalışmanın önemli bir sakıncası hileli girişimlere açık olmasıdır. İnternette “temiz” idrar örneği verebilmek için 40 farklı yol olduğu taramalar sonucu tespit edilmiştir (5).

Örnek toplama aşamasında ilk kaydedilen gözlemler oldukça önemlidir. Pek çok faktör nedeniyle idrar rengi değişiklik gösterebilir fakat; sağlıklı kişilerde idrar, tipik olarak saydam ve görünüşte açık sarıdır. Normal idrar örneklerinde oluşan kabarcıklar 1-2 dakika içerisinde kaybolurken, deterjan ya da sabun katılmış örneklerdeki kabarcıklar daha uzun süreli ve kalıcıdır. Örneğin sıcaklığı, rengi, bulanıklığı her biri kıymetli bulgulardır, kaydedilmesi önemlidir (45).

L. Tarnai ve M.R. Peace’in 2002 yılında yapmış oldukları çalışmada, bu tez çalışmasına paralel şekilde sınır değerlerine yakın bir idrar havuzu standartlar eklenerek oluşturulmuştur. Bu çalışmada $\Delta 9$ -THC-COOH, AMP, MDMA pozitif olarak raporlanan olguların idrar örneklerini kullanma sebebi maddelerin ve metabolitlerinin glukuronit konjugatı biyotransformasyonu ile vücuttan atılımı nedeniyle. Tarnai ve Peace’in çalışmasında hileli ajan olarak hazır satılan ürünlerden PCC, glütaldehit, nitrit içeren ürünler (Bölüm 2.4.1.) ve evsel kullanımı olan çamaşır suyu, amonyak, sirke kullanıştır (48). Evsel kullanımı olan ürünlerin hile konusunda paketli satılan ürünlere kıyasla daha başarılı olduğunu ve çamaşır suyunun en iyi detoksifikasyon ürünü olduğunu göstermişlerdir. Bu tez çalışmasında ise, çamaşır suyunun yüksek derişimlerde immunoassay için $\Delta 9$ -THC-COOH yanlış negatif sonuçlar saptanmış, AMP düzeyini ise arttırdığı belirlenmiştir. Tam bu aşamada sadece idrar taramalarında kullanımı olan hileli girişimleri tespit etmek geliştirilmiş olan CEDIA Sample Check kiti yüksek derişimdeki çamaşır suyunu tespit etmiştir. Sample Check kiti içerisinde diğer kitlerin içinde var olan bir enzim kullanılır ve tepkimenin düzgün gerçekleşip gerçekleşmediğini ölçer. Ortamda immünolojik tepkimenin oluşmasına engel bir durum varsa Sample Check kiti % 85 - % 105 aralığı dışında bir değer okur.

Hile katma yöntemlerini önlemek için geliştirilen idrar bütünlük test stripleri analiz öncesinde örneğe uygulanmalı, sonuç pozitif ise mutlaka doğrulanmalıdır. Farklı markalara göre analiz edilen parametrelerin sayısı ve test petleri içerisindeki reaktif madde oranı değişkenlik göstermektedir.

Tarnai ve Peace'in yapmış olduğu çalışmada sirkeden en çok etkilenen metabolitin $\Delta 9$ -THC-COOH olduğunu bildirmiş ancak çalışmamızda, kart testlerde sirkenin yüksek derişimlerde $\Delta 9$ -THC-COOH'la negatif sonuç gösterdiği belirlenmiştir (48). Farklı iki marka kart test ile yapılan bu çalışmada testlerin hassasiyetleri fark ortaya çıkmıştır. İmmunoassay tekniğinde ise, AMP ve $\Delta 9$ -THC-COOH'un sirkeden etkilenmediği, MDMA'nın eklenen sirke hacmi artıkça negatif sonuç verdiği, aynı zamanda Sample Check ve kreatinin değerlerinin normal aralıklarda olduğu gözlenmiştir.

İçerisinde 90 ± 2 NaOH, 10 ± 2 Na₂CO₃ içeren lavabo açıcı fiziksel bulgularda tortu, askıda çözünmeyen katı maddeler gözlemlenmiştir. Her iki marka kart testte kontrol çizgisinin oluşmasını engelleyerek, immunoassay tekniğinde ise 2 (w/v) oranında lavabo açıcı eklendiğinde $\Delta 9$ -THC-COOH yanlış negatif sonuç vermiş, aynı zamanda Sample Check $66,5 \pm 12,02$ olarak bulunmuştur. Daha yüksek derişimlerde ise cihazın "HATA" vermesine neden olacak şekilde analiz sonuçlanmıştır.

Gözdeki kızarıklık ve tahrişe tedavi için kullanılan göz damlaları içerisinde tetrahidrozolin hidroklorür ve inaktif maddeler olarak benzalkonyum klorür ve borat bulunduğu ve bu maddelerden benzalkonyum klorürün $\Delta 9$ -THC-COOH için immunoassayde yanlış negatif sonuçlar verdiği tespit edilmiştir (5). Yapmış olduğumuz çalışmada ise; $0,1$ mg benzalkonyum klorür içeren 30 (v/v) göz damlası eklendiğinde örnek rengide bulanma olduğu ve MDMA için sınır değerine yakın olarak yanlış negatif sonuç verdiği, sample check ve kreatinin değerlerinin normal aralıkta kaldığı belirlenmiştir. 1 (v/v) göz damlası eklendiğinde kart testlerinde yapılan çalışmada sadece 1 marka için $\Delta 9$ -THC-COOH yanlış negatif sonuç vermiştir.

Farklı üretici firmalar tarafından üretilen kart testlerin pozitif değeri belirlemek için kullandıkları sınır değerleri birbirinden farklılık göstermektedir ve bu farklılıklar da yanlış pozitif ya da yanlış negatif sonuçlara sebep olmaktadır. Her iki marka kart test cut off değerine yakın olan AMP ve hile katılmış tüm örneklerde **yanlış-negatif**

sonuç vermiştir. $\Delta 9$ -THC-COOH için, QuickTox Drug Screen markalı kart test %35,8 , Euphratest markalı kart test ise % 23,1 yanlış negatif sonuç vermiştir.

İmmunoassay tekniğinin sınırlayan etkenlerin başında antikorların özgünlüğü gelir. Tayin edilecek analitin yasadışı madde olduğu durumlarda birçok metaboliti kendisi gibi yapısal özellikler gösterdiğinden seçimlilik problemi oluşabilmektedir. Bu metabolitler tayin edilmek istenen analit ile çapraz reaksiyon verebilir. Böylece yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçlar ortaya çıkabilmektedir. Ayrıca örnekteki endojen antikorlar tepkimelere girerek antikor veya antijenlere bağlanıp sonucun yanlış yorumlanmasına neden olabilmektedir. Tek bir maddenin birden fazla metabolitinin çapraz reaksiyon vermesi, sonucun doğru yorumlanmasını zorlaştırır. Bu nedenle pozitif çıkan sonuçlar kromatografik yöntemlerle doğrulanmalıdır. Ayrıca yasadışı madde analizlerinde Kreatinin ve Sample Check mutlaka incelenecek parametreler arasında olmalıdır.

5709 olgu için idrarda ortalama kreatinin değeri $155,94 \pm 84,26$ (mg/dl) olarak hesaplanmış, aylar ve mevsimler arası farklılık bulunmamıştır. 2001 yılında M. Carrieri ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada idrar örneklerinin kreatinin ve yoğunluk sonuçlarını değerlendirmiş ve kadınların erkeklere göre daha düşük kreatinin değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir (49). Birçok yayında tartışıldığı üzere yaşın kreatinin ile ilişkisi de incelenmiş ve bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlarla paralel olarak yaşlıların gençlere göre daha düşük kreatinin değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızda yaş arttıkça kreatinin değerinin azaldığı istatistiksel olarak belirlenmiştir. Ayrıca laboratuvarımıza başvuran olguların %99'u erkek olduğu için cinsiyet ve kreatinin arasında anlamlı bir sonuç elde edilememiştir.

İdrar bütünlük strip testi ve immunoassay sonuçları arasında Kreatinin değerleri için %99,67 benzerlik bulunmuştur. İmmunassay tekniğine göre kreatinin değeri <20 mg/dl bulunan olgulardan 11'inin idrar bütünlüğünü saptadığı tespit edilmiştir. Bu 11 olgunun yasadışı madde tarama sonuçları incelenmiş ve hepsinin $\Delta 9$ -THC-COOH değerleri cut off (50 ng/ml) altında kaldığı belirlenmiştir. Normalizasyon sonucu Tablo 7'de görülen pozitif değerler 2015 yılı için elde edilen $155,94$ mg/dl kreatinin ortalama değerine göre hesaplamıştır. E.Cone ve arkadaşları tarafından yapılan kreatinin ve yoğunluk çalışmalarında kreatinin değeri 100 mg/dl olarak hesaplanmıştır (50).

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yasadışı madde analizi yapan laboratuvarlarda emniyet&gözetim zinciri, pre analitik, analitik ve post analitik aşamalar birlikte ve standardize bir şekilde yapılmasının konu hakkında bilimsel önemi gösterilmiştir.

Örnek toplama aşamasında kişilerin pozitif sonuçlardan kaçınmak amacıyla yapmış oldukları örnek değiştirme işlemine engel olmak için emniyet&gözetim zinciri aşaması uluslararası rehberlere göre yapılmalıdır. İdrar kimyasında değişiklikler oluşturması mümkün olabilecek girişimleri önlemek ve saptamak amacıyla idrar bütünlüğünü ölçen testlerin kullanılmasının gereği elde ettiğimiz sonuçlarda görülmektedir. Bu nedenle idrar bütünlük testleri laboratuvara ulaşan her idrar örneği için yapılmalı ve sonuçları dikkatle deneyimli laboratuvar çalışanları tarafından değerlendirilmelidir. Kart testlerin sadece ön tarama amaçlı olarak kullanılmalı ve sonuçlar mutlaka kromatografik yöntemlerle doğrulanmalıdır.

Kreatinin değerinin toplumdan topluma farklanması etnik köken, yaş, cinsiyet vb. nedenlerden kaynaklandığı bilinmektedir. Bu nedenden ötürü her toplumun kendine özgü kreatinin değeri hesaplanmalı ve normalizasyon işlemi bu değere göre yapılmalıdır.

7. KAYNAKLAR

- 1) Türk Hukuk Sitesi, 5237 Sayılı Türk Ceza Kanunu 191. Maddesi, 2014 güncelleme tarihli <http://www.turkhukuksitesi.com/mevzuat.php?mid=5139> linkinden ulaşılabilir.
- 2) Türk Hukuk Sitesi, 4857 Sayılı İş Kanunu 84. Maddesi, , 2014 güncelleme tarihli <http://www.turkhukuksitesi.com/mevzuat.php?mid=1254> linkinden ulaşılabilir.
- 3) Türk Hukuk Sitesi,2918 Sayılı Karayolları Trafik Kanunu 48. Maddesi, 2014 güncelleme tarihli <http://www.turkhukuksitesi.com/mevzuat.php?mid=9003> linkinden ulaşılabilir.
- 4) S. A. Akgür, Madde Bağımlılığı Tanı Ve Tedavi Kılavuzu El Kitabı, Madde Kullanım Bozukluklarında Toksikolojik Analizler, T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, 2011, Ankara
- 5) W. B. Jaffee, E.Trucco, S.Levy, R. D. Weiss, Is this urine really negative? A systematic review of tampering methods in urine drug screening and testing, Journal of Substance Abuse Treatment 33 (2007) 33– 42
- 6) S.Akgür, H.Coşkunol, Bağımlılık Yapıcı Maddeler ve Toksikolojisi, 2014
- 7) D. Kaya Akyüzlü, Z. Kayaaltı, Kan, Saç, İdrar ve Solunum Havası Örneklerinin Bağımlılık Yapan Maddelerin Analizinde Kullanımı, Marmara Pharmaceutical Journal 19: 232-237, 2015
- 8) Opioid Analjezikler. Akılcıl Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji Kitabı, Kayaalp, S.O. (ed.), 13. Baskı, Pelikan Yayıncılık Ltd. Şti., Ankara, 2012, s. 826-845
- 9) Altman AJ, Albert DM, Fournier GA (1985), Cocaine's use in ophthalmology: our 100-year heritage, Surv Ophthalmol 29 (4): 300–6. doi:10.1016/0039-6257(85)90153-5
- 10) Warfa N, Klein A, Bhui K, Leavey G, Craig T, Alfred Stansfeld S. Khat use and mental illness: a critical review. Soc Sci Med. 2007; 65(2):309-18.
- 11) Dasgupta A. Handbook of drug monitoring methods: therapeutics and drugs of abuse. Totowa, N.J.London: Humana Springer distributor, 2008.
- 12) De la Torre R, Farre M, Roset PN, Pizarro N, Abanades S, Segura M, et al. Human pharmacology of MDMA: pharmacokinetics, metabolism, and disposition. Ther Drug Monit 2004; 26: 137-44.
- 13) Verstraete A. , Detection times of drugs of abuse in blood, urine, and oral fluid. Ther Drug Monit. 2004 Apr;26(2):200-5.
- 14) Goldfrank's toxicologic emergencies. New York: McGraw-Hill Medical Pub. Division, 2002
- 15) P. Sharma, P. Murthy, M.M. Srinivas Bharath, Chemistry, Metabolism, and Toxicology of Cannabis: Clinical Implications, Iran J Psychiatry 2012; 7:4: 149-156
- 16) Huestis, M. A. (2007). Human cannabinoid pharmacokinetics. Chemistry & Biodiversity, 4(8), 1770-1804.
- 17) Karch SM, Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of abused Drugs, CRC press 2008
- 18) Wild D., 2013, The Immunoassay Handbook Theory and applications of ligand binding,ELISA and related techniques Fourth Edition, Chapter 2.7 Qualitative Immunoassay 141-142

- 19) SAMSHA, Federal Register, November 25, 2008 (73 FR 71858), Section 3.4, Analytes and Their Cutoffs
- 20) Levine B, Principles of Forensic Toxicology 3rd Edition, AACC Press, 2010
- 21) D. Battal, Adli Toksikoloji Analizlerinde Biyolojik Örnek Ve Analitik Yöntem Seçimleri, Adli Tıp Dergisi / Journal of Forensic Medicine, Cilt / Vol.:27, Sayı / No:1
- 22) Performance Evaluation of Three On-Site Adulterant Detection Devices for Urine Specimens, Michelle R. Peace I and Lisa D. Tarnai
- 23) B.Aydınbelge, Gerçek Kreatinin Ölçümü İçin Geliştirilen Kreatinin Ölçüm Yöntemlerinin Karşılaştırılması, Turkish Journal of Biochemistry–Turk J Biochem 2011; 36 (4) ; 356–361
- 24) Graff's textbook of routine urinalysis and body fluids, L. A. Mundt, K. Shanahan, 2016, Third edition, Chapter 4, Chemical Analysis of Urine
- 25) Ringsrud, K.M. et.al., Urinalysis and Body Fluids: A Color Text and Atlas, Mosby-Year Book, Inc., 1995
- 26) E.Kaya, I.Akata, S.Bakırcı, D.Dereli, E.Küçüküven, İ.Yılmaz, İmmunokromatografik Kart Teslerin Çalışma Prensipleri ve Üretim Teknikleri, Düzce Tıp Fakültesi Dergisi 2014; 16(3): 45-53
- 27) Jeon SI, Yang X, Andrade JD. Modeling of homogeneous cloned enzyme donor immunoassay. Anal Biochem 2004; 333: 136–147
- 28) F. Schobben, E. Kleijn, Drug Determinations In Body Fluids By The Enzyme Multiplied Immunoassay Technique (Emit ®), European Journal Of Drug Metabolism And Pharmacokinetics 1977, No 4, P.185-189
- 29) Rosen S. Market Trends in Lateral Flow Immunoassays, Lateral Flow Immunoassay. Springer, 2009, USA
- 30) Rosand C. Paper-based analytical devices for point-of-care infectious disease testing. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2014; 33(2):147-56
- 31) Anfossi L, Baggiani C, Giovannoli C, D'Arco G, Giraudi G. Lateral-flow immunoassays for mycotoxins and phycotoxins: a review. Anal Bioanal Chem. 2013 Jan;405(2-3):467-80
- 32) Qian S, Bau HH. A mathematical model of lateral flow bioreactions applied to sandwich assays. Analytical Biochemistry, 322, 89-98
- 33) Sajid M, Kawde AN, Daud M. Designs, formats and applications of lateral flow assay: A literature review Journal of Saudi Chemical Society (2015) 19, 689–705
- 34) Delilah G. Lateral Flow Assembly (LFA). Ginolis, 2014, USA
- 35) Wolff K, Farrell M, Marsden J, Monteiro MG, Ali R, Welch S, Strang J. A review of biological indicators of illicit drug use, practical considerations and clinical usefulness. Addiction 1999;94(9):1279-98
- 36) Kintz P, Ludes B (1998). Applications of alternative matrices (hair, saliva, sweat) in forensic toxicology. Toxicology Letters, 95, 1-6
- 37) N. Giovanni, N. Fucci, The Current Status of Sweat Testing For Drugs of Abuse: A Review, Current Medicinal Chemistry, 2013, 20, 545-561
- 38) Olaf Beck, Sören Sandqvist, Ilse Dubbelboer, Johan Franck. Detection of Δ^9 -Tetrahydrocannabinol in Exhaled Breath Collected from Cannabis Users. J Anal Toxicol. 2011 35
- 39) M.A. Huestis, E. J. Cone, Differentiating New Marijuana Use From Residual Drug Excretion in Occasional Marijuana Users, Journal of Analytical Toxicology, Vol. 22, October 1998

- 40) T. Onat, K. Emerk, E. Y. Sözmen, İnsan Biyokimyası, Su ve Elektrolit Metabolizması s.38-40, 975-8624-20-2
- 41) T. Ası, Biyokimya Cilt II, Protein Metabolizması, Ankara 1999
- 42) Wu, A. H., Bristol, B., Sexton, K., Cassella-McLane, G., Holtman, V., Hill, D. W. (1999). Adulteration of urine by Urine Luck, Clinical Chemistry, 45, 1051– 1057
- 43) Uebel, R. A., & Wium, C. A. (2002). Toxicological screening for drugs of abuse in samples adulterated with household chemicals. South African Medical Journal, 92, 547–549
- 44) European Laboratory Guidelines for Legally Defensible Workplace Drug Testing Version 1.0
- 45) Department of Health and Human Service Substance Abuse and Mental Health Services Administration Center for Substance Abuse Prevention Urine Specimen Collection Handbook for Federal Agency Workplace Drug Testing Programs May 31, 2014
- 46) Avrupa Uyuşturucu ve Uyuşturucu Bağımlılığı İzleme Merkezi, Avrupa Uyuşturucu Raporu 2015
- 47) Türkiye Uyuşturucu Ve Uyuşturucu Bağımlılığı İzleme Merkezi, 2011 Raporu
- 48) M. R. Peace, L. D. Tarnai, Performance Evaluation of Three On-Site Adulterant Detection Devices for Urine Specimens, Journal of Analytical Toxicology, Vol. 26, October 2002
- 49) M. Carrieri, A. Trevisan, G. B. Bartoluci, Adjustment to concentration-dilution of spot urine samples: correlation between specific gravity and creatinine, Int Arc Occup Environ Health (2001) 74:63-67
- 50) E. J. Cone, Y. H. Caplan, F Moser, T. Robert, M. K. Shelby, D L. Black, Normalization of Urinary Drug Concentrations with Specific Gravity and Creatinine, Journal of Analytical Toxicology, Vol. 33, January/February 2009

EKLER

Ek1. Etik Kurul İzin Belgesi



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU



Sayı : B.30.2.EGE.0.20.05.00/OY/ 1424 /558
Karar Nu: 13-7/1

19 EYL 2013

Sayın
Doç. Dr. Serap Annette AKGÜR
Ege Üniversitesi
Madde Bağımlılığı, Toksikoloji ve İlaç Bilimleri Enstitüsü

Kurulumuza başvururunu yaptığınız sorumluluğunda yapılması tasarlanan **"Madde Bağımlılıklarında Kötüye Kullanımı Olan Maddelerin Saç ve İdrar Örneklerinde Tayini"** konulu araştırmanıza ilişkin Kurulumuz kararı ekte sunulmaktadır.

Ayrıca ilgili mevzuat gereği araştırmaya başlama bildiriminin, bir yıllık süreyi aşması durumunda Yıllık Bildirimlerin, 7 gün içinde Ciddi Advers Olay Bildirimlerinin, bitirme tarihinin ve Sonuç Raporunun Kurulumuza sunulması ve her türlü yazışmanın araştırma tam adı/kodu, karar tarih ve sayısı bildirilerek (Etik Kurul Bilgilendirme Formu ekinde) yapılması gerekmektedir.

Yazımızın bir örneğinin diğer araştırma merkezlerine ve destekleyiciye iletilmesi hususunda bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.


Prof. Dr. Kaan KAVAKLI
Başkan

EK: İlgili Etik Kurul Kararı



ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Madde Bağımlılarında Kötüye Kullanımı Olan Maddelerin Saç ve İdrar Örneklerinde Tayini		
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	-		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç. Dr. Serap Annette AKGÜR		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UZMANLIK ALANI	Madde Bağımlılığı, Toksikoloji		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Ege Üniversitesi Madde Bağımlılığı, Toksikoloji ve İlaç Bilimleri Enstitüsü		
	DESTEKLEYİCİ	-		
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	-		
	ARAŞTIRMANIN FAZİ	FAZ 1 ☐	FAZ 2 ☐	FAZ 3 ☐
ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Yeni Bir Endikasyon ☐		Yüksek Doz Araştırması ☐	
	Diğer ise belirtiniz ☐		İlaç Dışı ☐	
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarih	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	06.08.2013		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	-		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU	-		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐

KARAR BİLGİLERİ	Karar Nu: 13-7/1	Tarih: 16.09.2013
	Yukarıda başvuru bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak Kurulumuzca incelenmiş, araştırma giderlerinin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödenmediği koşullarda araştırmaya başlanmasında etik açıdan sakınca olmadığına oy birliği ile karar verilmiştir.	

EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU						
ÇALIŞMA ESASI		Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu				
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Prof. Dr. Kaan KAVAKLI				
Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Kablim (**)	İmza
Prof. Dr. Kaan KAVAKLI Başkan	Çocuk Sağlığı Hst. ve Çocuk Kan Hst	E.Ü. Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hst. AD.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	<i>[Signature]</i>
Prof. Dr. Aytül ÖNAL Başkan Yardımcısı	Tıbbi Farmakoloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	<i>[Signature]</i>
Uzm. Ecz. Ebru BEDİR Raportör	Eczacı	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	<i>[Signature]</i>
Prof. Dr. Suna TOKSAVUL Üye	Protetik Diş Tedavisi	E.Ü. Diş Hek. Fakültesi Protetik Diş Tedavisi AD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	<i>[Signature]</i>
Prof. Dr. Bülent SEMERCİ Üye	Üroloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Üroloji AD.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	<i>[Signature]</i>

ASLI GİBİDİR

EÜTF Klinik Araştırmalar
Etik Kurulu Başkanı

Araştırma Başvurusu Onay Belgesi

Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
22	28.09.2011/05	1/2



ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Madde Bağımlılarında Kötüye Kullanımı Olan Maddelerin Saç ve İdrar Örneklerinde Tayini		
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	-		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç. Dr. Serap Annette AKGÜR		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UZMANLIK ALANI	Madde Bağımlılığı, Toksikoloji		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Ege Üniversitesi Madde Bağımlılığı, Toksikoloji ve İlaç Bilimleri Enstitüsü		
	DESTEKLEYİCİ	-		
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	-		
	ARAŞTIRMANIN FAZI	FAZ 1 ☐	FAZ 2 ☐	FAZ 3 ☐
ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Yeni Bir Endikasyon ☐		Yüksek Doz Araştırması ☐	
	Diğer ise belirtiniz ☐		İlaç Dışı ☐	
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	06.08.2013		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	-		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU	-		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐

KARAR BİLGİLERİ	Karar Nu: 13-7/1	Tarih: 16.09.2013
	Yukarıda başvuru bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak Kurulumuzca incelenmiş, araştırma giderlerinin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödenmediği koşullarda araştırmaya başlanmasında etik açıdan sakınca olmadığına oy birliği ile karar verilmiştir.	

EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU						
ÇALIŞMA ESASI		Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu				
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Prof. Dr. Kaan KAVAKLI				

Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Kablim (**)	İmza
Prof. Dr. Kaan KAVAKLI Başkan	Çocuk Sağlığı Hst. ve Çocuk Kan Hst	E.Ü. Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hst. AD.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	<i>[Signature]</i>
Prof. Dr. Aytül ÖNAL Başkan Yardımcısı	Tıbbi Farmakoloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	<i>[Signature]</i>
Uzm. Ecz. Ebru BEDİR Raportör	Eczacı	E.U. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	<i>[Signature]</i>
Prof. Dr. Suna TOKSAVUL Üye	Protetik Diş Tedavisi	E.Ü. Diş Hek. Fakültesi Protetik Diş Tedavisi AD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	<i>[Signature]</i>
Prof. Dr. Bülent SEMERCİ Üye	Üroloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Üroloji AD.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	<i>[Signature]</i>

ASLI GİBİDİR

Araştırma Başvurusu Onay Belgesi

EÜTF Klinik Araştırmalar

Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
22	28.09.2011/05	1/2



ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ

KARAR BİLGİLERİ		Karar Nu : 13-7/1				
Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Zeliha KERRY Üye	Farmakoloji	E.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmakoloji AD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	<i>Zeliha Kerry</i>
Prof. Dr. Süheyla ALTUĞ ÖZSOY Üye	Halk Sağlığı Hemşireliği	E.Ü. Hemşirelik Fakültesi Halk Sağlığı Hemşireliği AD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	<i>Süheyla Altuğ Özsoy</i>
Prof. Dr. Zeki KARASU Üye	İç Hastalıkları ve Gastroenteroloji	E.Ü. Tıp Fakültesi İç Hastalıkları AD.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	<i>Zeki Karasu</i>
Doç. Dr. Murat PEHLİVAN Üye	Biyofizik	E.Ü. Tıp Fakültesi Biyofizik AD.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	<i>Murat Pehlivan</i>
Doç. Dr. Hasan PETEK Üye	Hukuk	Gediz Üniversitesi Hukuk Fakültesi	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	<i>Hasan Petek</i>
Doç. Dr. Çağatay ÜSTÜN Üye	Tıp Tarihi ve Etik	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıp Tarihi ve Etik AD.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	<i>Çağatay Üstün</i>
Doç. Dr. Şafak TANER Üye	Halk Sağlığı	E. Ü. Tıp Fakültesi Halk Sağlığı AD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	<i>Şafak Taner</i>
Doç. Dr. Ayşe EROL Üye	Tıbbi Farmakoloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	<i>Ayşe Erol</i>
Uzm. Dr. Özlem EKER Üye	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	Serbest	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	<i>Özlem Eker</i>
Fatma BÜYÜKAKKUŞ Üye	Ziraat Mühendisi	Emekli	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	<i>Fatma Büyükkakuş</i>

* Araştırma ile İlişki
** Toplantıda Bulunma

ASLI GİBİDİR
EÜTF Klinik Araştırmalar
Etik Kurulu Başkanı

Araştırma Başvurusu Onay Belgesi	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
	22	28.09.2011/05	2/2

ÖZGEÇMİŞ

1989 Gölcük-Kocaeli doğumluyum. 2008-2012 yıllarında Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü'nde lisans eğitimimi aldım. 2012 yılından bu yana Ege Üniversitesi Madde Bağımlılığı, Toksikoloji ve İlaç Bilimleri Enstitüsü'nde Bağımlılık Toksikolojisi Anabilim Dalı'nda eğitim görmekte ve 31.12.2014'ten beri araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.

