

YUVARLAK MASA TOPLANTILARI – 6

MERKEZİ MADDE ANALİZ TARAMA LABORATUVARI; RUTİN İŞLEYİŞ, LABORATUVAR SÜREÇLERİ VE YAŞANAN SORUNLAR

Hacer Eroğlu İçli

T.C. Sağlık Bakanlığı İstanbul Bakırköy Prof. Dr. Mazhar Osman Ruh Sağlığı ve Sinir Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi

Madde kullanımı, uzun süreli kullanıma bağlı gelişen biyolojik, psikolojik ve sosyal bozukluklar nedeniyle ciddi bir toplum ve halk sağlığı sorunudur. Kullanımı saptamak için yapılan madde analizleri de bu sorun ile mücadelenin önemli unsurlarından biridir. Hangi amaçla istenmiş olursa olsun, madde analizlerinde ‘adli süreç’ ile karşılaşılma potansiyeli olduğu unutulmamalıdır. Madde ile mücadelede tıbbi laboratuvarların görevi Sağlık Bakanlığı tarafından yayınlanan ‘İdrar Numunelerinde Yasadışı ve Kötüye Kullanılan İlaç ve Madde Analizi Yapan Tıbbi Laboratuvarlar ile Madde Bağımlılığı Teşhis ve Tedavi Merkezlerindeki Tıbbi Laboratuvarların İşleyiş Esasları 2016’ genelgesinde detaylandırılmıştır.

Doğrulama testleri için ise ‘İdrar Numunelerinde Yasadışı ve Kötüye Kullanılan İlaç ve Madde Analizi Yapan Doğrulama Laboratuvarlarının Çalışma Usul ve Esasları Hakkında Genelge (2015) esas alınmıştır. Avrupa’da Avrupa Uyuşturucu ve Uyuşturucu Bağımlılığı İzleme Merkezi (The European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (EMCDD)) her yıl ‘Avrupa Uyuşturucu Raporu’ düzenlemektedir. Benzer şekilde ülkemizde Türkiye Uyuşturucu ve Uyuşturucu Bağımlılığı İzleme Merkezi (TUBİM) tarafından oluşturulan rapora göre Türkiye’de en fazla kullanılan maddelerin bulunduğu ve önerilen minimum tarama test paneli;

- Amfetaminler
- Benzodiazepinler
- Esrar
- Kokain
- Opiatlar testlerini içermektedir.

Madde analizleri; tıbbi (Klinik Toksikoloji- AMATEM, ÇEMATEM), adli (Adli Toksikoloji- Denetimli Serbestlik) ve sosyal (işyeri, sürücü, sporcu, ergen taramaları vb.) olmak üzere üç amaçla yapılır.

Tarama için merkezi laboratuvarlarda kullanılan analiz metodları; Otomatize sistemlerde immunassay yöntemler, “enzyme multiplied immunoassay technique (EMIT)”, “cloned enzyme donor immunoassay (CEDIA)”, “fluorescence polarization immunoassay (FPIA)” ve “kinetic interaction of microparticles in solution (KIMS)” gibi tekniklere dayanır. Bu yöntemler, sensitivitesi yüksek olması, ucuz, hızlı, basit, otomasyona uyumlu, küçük örnek hacmi kullanımı, hızlı sonuç vermesi, az reaktif tüketimi gibi avantajlara sahiptir. Ancak spesifisiteleri düşüktür.

Laboratuvar Süreçleri;

Preanalitik Evre Aşamaları: Uygun numune türünün seçimi, uygun test paneli istemi, birey onamının alınması, gözetimli numune alımı, gözetim zincir formunun doldurulması, numunenin kimliklendirilmesi ve kontrolü, güvenli transport zinciri ve numunenin laboratuvara kabulü, güvenilir malzeme ve cihaz kullanımı gibi basamaklardan oluşur.

Analitik Evre Aşamaları: Yetkilendirilmiş laboratuvarda analiz, numune bütünlük testlerinin değerlendirilmesi, güvenilir yöntemle iki basamaklı analiz, kalite kontrol çalışmalarını içerir.

Postanalitik Evre Aşamaları: Şahit numune saklama, şahit numunenin doğrulanması, sonuç güvenlik zinciri ve raporlama, uygun eşik konsantrasyon ve sonucun doğru yorumu çalışmaların son evresini oluşturur.

Toksikoloji tarama testlerinde en çok kullanılan biyolojik materyal idrardır. Kullanılan maddenin ve metabolitlerinin yüksek konsantrasyonda bulunması, yapısında serbest serum proteinleri, lipidler ve

diğer büyük moleküler ağırlıklı bileşiklerin bulunmaması, ön analizleri ve numune hazırlığını kolaylaştırır. Ayrıca saptama penceresi orta uzunluktadır ve idrar analizleri üzerine oldukça fazla deneyim vardır.

Analiz aşamalarında önemli hususlar;

- Numunenin kimliklendirilmesi ve kontrolü
- Sıcaklık ve miktar kontrolü (32.2 °C-37.7 °C, 35-45 ml)
- Gözetimin ve gözetim zinciri formunun özenle doldurulmasının önemi
- Numunenin güvenli transferi
- Numune güvenliği (kilitli çanta, güvenlik etiketi vb. gibi)
- Numune bütünlük testlerinin değerlendirilmesi (kreatinin, dansite, pH ve nitrit)
- Şahit numunelerin saklanmasıdır(en az 6 ay süreyle, en az -20 °C'de).

İnterferans; Kullanılan ölçüm yönteminin herhangi bir basamağını olumsuz yönde etkileyen, numunede bulunan diğer maddelerin yarattığı etkidir. İdrarda madde tarama analizlerindeki en önemli dezavantajdır.

Tarama testleri için kullanılan 'Otomatize İmmunassay Yöntemler'in sensitivitesi yüksek ancak spesifisitesi düşüktür; immunokimyasal bir kitin performansı antikorun özelliklerine bağlıdır, benzer kimyasal yapıdaki maddelere karşı çapraz reaksiyon oluşturmaları nedeniyle bu yöntemler interferansa ve yalancı pozitifliğe açıktır.

Yalancı pozitiflik; Gerçekte numunede olmadığı bilinen bir maddenin analitik yöntemle tespit edilmesi durumudur. Bu nedenle ölçüm yöntemine özgü potansiyel çapraz reaksiyonlar da bilinmeli ve varsa sebebini belirlemek için hastaya kullandığı ilaç/bitkisel ürün olup olmadığı sorulmalıdır. Başta amfetamin grubu (özellikle Ekstazi) olmak üzere tarama testlerinde yalancı pozitifliğe rastlanır ve doğrulama yöntemlerine ihtiyaç duyulur.

Yalancı negatiflik; Gerçekte numunede olduğu bilinen bir maddenin, analitik yöntemle tespit edilememesi durumudur. Özellikle sentetik kannabinoid ve katinonlarda rastlanılan bu sorunun temel sebebi, bilinen yöntemlerle bu maddelerin tespit edilememesidir. Dünya uyuşturucu madde piyasalarında üretimin hızla revize olması ve yeni maddelerin ortaya çıkması bu durumu zorlaştırmaktadır.

Sonuç olarak; Toplumsal iyilik hali ve güvenli yaşamın devamlılığının sağlanması için madde taramasının yaygınlaştırılması gerekmektedir. Tüm toksikolojik analizler için yeterli tek bir teknik yoktur o nedenle popülasyonu geniş merkezi toksikoloji laboratuvarlarında taramaların ve doğrulama süreçlerinin aksamaması için tüm yöntemlerin birlikte kullanılması ve gerekli donanım ve personelin sağlanması önemli bir adım olacaktır. Yalancı pozitif/negatiflik oranlarının düşmesi, dedekte edilemeyen maddelerin analiz edilebilmesi için araştırmaların artırılması ve deneyimlerin paylaşılması madde analizlerinin geleceğine ışık tutacaktır.

Kaynaklar

1. İdrar Numunelerinde Yasadışı ve Kötüye Kullanılan İlaç ve Madde Analizi Yapan Tıbbi Laboratuvarlar ile Madde Bağımlılığı Teşhis ve Tedavi Merkezlerindeki Tıbbi Laboratuvarların İşleyiş Esasları (2016). Ankara, Sağlık Bakanlığı.
2. TDM8-A: Urine drug testing in the clinical laboratory Approved guideline (1999). USA, Clinical and Laboratory Standards Institute.
3. Ulusal Uyuşturucu ile Mücadele Strateji Belgesi (2016) Ankara, Uyuşturucu ile Mücadele Yüksek Kurulu.
4. Avrupa Uyuşturucu ve Uyuşturucu Bağımlılığını İzleme Merkezi (2022), Avrupa Uyuşturucu Raporu 2022: Eğilimler ve Gelişmeler, Avrupa Toplulukları Resmî Yayınlar Bürosu, Lüksemburg
5. Zhang YV, Wei B, Zhu Y ve ark. (2016) Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry: An Emerging Technology in the Toxicology Laboratory. ClinLab Med 36:635-61.

6. Vinet B Clin Chem. 1987; 33; 2204-2208, Grady S Endpoint. J Anal Toxicol 1986; 10; 1-5, Eckfeldt JH Clin Chem 1980; 26; 1278-1280, Juenke JM Am J Clin Pathol 2011; 136; 318-324, Hanton SL, Ther Drug Monit 2013; 35; 836-843.
7. Tıbbi Laboratuvarlarda Madde Analizleri, Türk Klinik Biyokimya Derg 2016; 14(1): 58-71
8. HighResNPS.com: An Online Crowd-Sourced HR-MS Database for Suspect and Non-targeted Screening of New Psychoactive Substances. J Anal Toxicol, 2019;43:520-527.
9. Urine drug testing in clinical practice (4th ed.). Gourlay, D. L., Caplan, Y. H., & Heit, H. A. (2010). San Francisco: California Academy of Family Physicians.

DOĞRULAMA LABORATUVARLARININ MADDE ANALİZ SÜRECİNDEKİ YERİ ve YENİ PSİKOAKTİF MADDELER (NPS)

Abdullah Elçi

İstanbul 3 No'lu Halk Sağlığı Laboratuvarı

Madde kötüye kullanımı için yapılan tarama analizleri pozitif çıkan numuneler, kişinin anamnez ve fizik muayene bulguları ile uyumsuzluk saptanan numuneler, kişinin itirazı ve adli makamlar tarafından talep edilmesi gibi durumlarda numuneler; doğrulama laboratuvarına gönderilirler. Gönderilen numuneler, tarama analizlerinin yapıldığı laboratuvarlarda, gözetim zinciri kurallarına uygun olarak alınmış, uygun koşullarda saklanmış olan şahit numunelerdir. Doğrulama laboratuvarına gönderilecek numunelerin transferi, numune kabul ve ret kriterleri, gönderim formları, analiz ve saklama koşulları, validasyon parametreleri 2016 yılında Sağlık Bakanlığının yayınlamış olduğu “İdrar Numunelerinde Yasadışı ve Kötüye Kullanılan İlaç ve Madde Analizi Yapan Tıbbi Laboratuvarlar ile Madde Bağımlılığı Teşhis ve Tedavi Merkezlerindeki Tıbbi Laboratuvarların İşleyiş Esasları”nda tanımlanmış bulunmaktadır. Doğrulama analizleri gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC/MS) veya sıvı kromatografisi- kütle spektrometresi (LC/MS/MS) kullanılarak yapılmaktadır. Sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi; sıvı kromatografisinin fiziksel ayırma yeteneklerini kütle spektrometresinin kütle analizi yetenekleriyle birleştiren bir analitik tekniktir; yüklü parçacıkların (iyonların) kütle-yük oranlarını (m/z) ölçer. Çok sayıda madde ve metaboliti aynı anda ayrı ayrı analiz edebilir, numunenin analize hazırlanmasında, gaz kromatografisi/kütle spektrometresine göre daha az ön işlem gerektirir. Son yıllarda madde /ilaç taraması için yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (HRMS) yöntemlerinin kullanımında artış olmuştur. Bu teknolojiler, yüksek çözünürlük güçleriyle yüksek kütle doğruluğu elde edebilirler; bu da onları karmaşık biyolojik matrikslerde aynı anda yüzlerce bileşiği tespit edebilen ideal teknolojiler haline getirmektedir.

Günümüz koşullarında zengin çeşitliliğe sahip olan uyuşturucu/uyarıcı madde kullanımı tüm dünyada ve transport ülke olan Türkiye’de artmaktadır. Belirli standart yöntemlerle çalışmakta olan laboratuvarların her maddeyi analiz etme ve değerlendirme imkanı bulunmamaktadır. Özellikle yeni psikoaktif maddeler (NPS) arasında yer alan sentetik kannabinoidler, sentetik katinonlar ve diğer sentetik maddeler; dünya uyuşturucu madde piyasalarında hızla revize olmakta ve art arda yeni maddeler üretilmektedir. Bu durum madde kullanımında toksik ve fatal etkilerin görülmesini artırdığı gibi laboratuvarların işini de zorlaştırmakta ve tespit imkanını azaltmaktadır. Bu maddeler tarama analizleriyle sıklıkla tespit edilememekte ve tespit edilmiş olsalar dahi standart madde gereksinimi ortaya çıkması, gerek çok yeni maddelerin standartlarının olmaması gerekse ücretlerin çok yüksek olması ve satın alma işlemlerinin uzunluğu nedeniyle analizlerin doğrulanması için süreçler uzamaktadır.

NPS konusunda günceli yakalamak için ortaya konan yaygın bir yaklaşım da; gaz kromatografisi – kütle spektrometresi veya sıvı kromatografisi -yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (LC-HR-MS) kullanılarak kalitatif taranmasıdır. Bununla birlikte zengin çeşitlilikte ve giderek artan sayıda NPS olsa da kullanım yaygınlığı düşüktür, bu nedenle tarama kütüphanelerini ilgili analitik hedeflerle güncel tutmak zorlaşır. NPS taraması için yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (HR-MS) veri tabanları bu konuda yeterli kapsamı sağlayabilmektedir. Bu yöntem ile maddeler ve kullanımında trendler hızlı bir şekilde tespit edilebilmektedir.

Madde analizleri kadar raporların yorumlanması da önem arz etmektedir. Özellikle eşik değer, LOD (Tespit Limiti) ve LOQ (Tayin Limiti) kavramları, olası interferanslar, rapora yazılmış olan açıklamalar rapor yorumunda önemlidir ve uzman kişiler tarafından değerlendirilmesi gereken unsurlardır.

Dikkat edilmesi gereken diğer bir konu da testin kullanım amacına göre sonuçların değerlendirilmesi gerekliliğidir. İşleyiş esaslarında belirtildiği gibi madde analizleri tıbbi, adli veya sosyal (idari) amaçlı yapılabilmektedir. Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa’da işyeri ilaç/madde tarama (workplace drug testing) analizleri sıklıkla uygulanmaktadır. Uygulamada Amerika’da SAMSHA (Substance Abuse and Mental Health Services Administration) ve Avrupa’da EWDTS (European Workplace Drug Testing

Society) adlı kuruluşların belirlemiş olduğu eşik konsantrasyonları sonuçların değerlendirilmesinde kullanılmakta; bu değerlerin altında tespit edilmiş madde konsantrasyonları tayin sınırının üstünde olsalar dahi negatif olarak kabul edilmekte ve çalışanın korunması hedeflenmektedir.

Ülkemizde yasaklı madde tarama-doğrulama analizleri ve raporlanmasıyla ilgili süreçlerdeki gerekli düzenlemelerin yapılması ile tıbbi, idari ve adli süreçlerdeki belirsizliklerin ortadan kalkacağı düşünülmektedir.

Laboratuvarımız 02.11.2017 tarihinde yetkilendirilmiş, 25.06.2020 tarihi ile de TS EN ISO 15189 Tıbbi Laboratuvarlar Kalite ve Yeterlilik İçin Özel Şartlar Standardı kapsamında Türkiye’de ilk akredite olan doğrulama laboratuvarı olmuştur. İstanbul 3 No’lu Halk Sağlığı Laboratuvarı bünyesinde faaliyet gösteren, idrar numunelerinde yasadışı ve kötüye kullanılan ilaç ve madde analizi yapan doğrulama laboratuvarımızda madde analizleri, yüksek çözünürlüklü bir kütle spektrometresi olan Q Exactive Focus Orbitrap LC-MS/MS cihazı ile yapılmaktadır. Kullanılan yöntemin geçerlilik çalışmaları (metot validasyonu) kapsamlı olarak yapılmakta ve kayıt altına alınmaktadır. Numunenin kabulünden raporlandırılmasına kadar tüm aşamalar kalite gerekliliklerini karşılayacak şekilde gerçekleştirilmektedir. Tarama analizleri yapılmış numuneler güvenlik zinciriyle doğrulama laboratuvarımıza teslim edilmektedir. İdrar bütünlük testleri çalışılan örnekler, manuel hazırlık işlemlerinin ardından kütle spektrometresi ile analiz edilerek sonuçlandırılmaktadır.

Kaynaklar

1. Limitations of immunoassays for screening of drugs of abuse in urine: issues of false positive and false negative results. Boyda JM, Sadrzadeh SMH. *Accurate Results in the Clinical Laboratory*, Second Edition; 233-242; 2019.
2. Appropriate Use of Drug Testing in Clinical Addiction Medicine. Jarvis M, Williams J, Hurford M Lindsay D, et al. *J Addict Med*. May/Jun 2017;11(3):163-173.
3. Limitations of Drugs of Abuse Testing. Dasgupta A, Sepulveda JV. *Accurate Results in the Clinical Laboratory*. 213-215; 2013.
4. Tıbbi Laboratuvarlarda Madde Analizleri. Küme T, Karakükcü Ç, Uzun NK, Pınar A. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*; 14(1):58-71; 2016.
5. Yasadışı ve Kötüye Kullanılan Madde Analizlerinin Kapsamı, Kalite ve Güvenlik Gereklilikleri. Küme T, Karakükcü Ç, Pınar A, Coşkunol H. *Türk Psikiyatri Dergisi*;28(3):198-207; 2017.
6. Challenges in confirmation testing for drugs of abuse. Broussard LA. *Accurate Results in the Clinical Laboratory*, Second Edition 233-246; 2013.
7. Toxicology: Liquid chromatography mass spectrometry. Lynch K. *Mass Spectrometry for the Clinical Laboratory* 109-130; 2017.
8. Yasadışı ve Kötüye Kullanılan ilaç ve Madde Analizi Yapan Tıbbi Laboratuvar ile Madde Bağımlılığı teşhis ve Tedavi Merkezlerindeki Laboratuvarların İşleyiş Esasları. Sağlık Bakanlığı, 2016.
9. <https://www.govinfo.gov/content/pkg/FR-2017-01-23/pdf/2017-00979.pdf>
10. <http://www.ewdts.org/data/uploads/documents/ewdts-urine-guideline-2015-11-01-v2.0.pdf>
11. HighResNPS.com: An Online Crowd-Sourced HR-MS Database for Suspect and Non-targeted Screening of New Psychoactive Substances. *Journal of Analytical Toxicology*, 2019;43:520–527
12. Sample Mining and Data Mining: Combined Real-Time and Retrospective Approaches for the Identification of Emerging Novel Psychoactive Substances. *J Forensic Sci*, 2019