

# 21. BÖLÜM

## Analitik Artefaktlar

Aslı ATASOY<sup>1</sup>  
İsmail Ethem GÖREN<sup>2</sup>  
Nebile DAĞLIOĞLU<sup>3</sup>

### Antemortem Analitik Artefaktlar

Numune toplama ve saklama işlemlerinde olduğu gibi, analitik sürecin kendisinde de toksikolojik sonuçların yorumlamalarını engelleyebilecek artefaktlar ortaya çıkabilmektedir. Hedef analitler ve/veya interferanslar, analizler sırasında kullanılan iç standartlar, analitik sürecin kendisindeki safsızlıklar (örneğin ekstraksiyon solventlerindeki safsızlıklar), toksikolojik sonuçlarda değişikliklere neden olabilmektedir.

Miktar tayini analizlerinde, hedef analitin yapısına benzer iç standart kullanılması, analizin doğruluğunu arttırmaktadır. Birçok durumda rutin olarak kullanılan iç standartlar, hedef analitin döteryumlu bir analogudur. Bu döteryumlu iç standartlar, küçük bir safsızlık olarak, az bir miktarda hedef analite sahip olabilmektedirler. Örneğin, döteryumlu benzoilekgonin-D3, az miktarda benzoilekgonin içerebilmektedir. Bu durum kokain metaboliti için nicel analizin doğruluğunu değiştirecektir. Ayrıca, iç standardın yapısal analogu da küçük bir safsızlık olarak mevcut olabilmektedir. Bergeron ve ark.larının (1) yaptıkları bir çalışmada, oksikodon, oksimorfon ve noroksikodon için eşzamanlı bir nicel analiz aşamasında oksikodon-D3 iç standardında mevcut olan oksimorfonun etkisini araştırmışlardır. Bu minör metabolitin varlığının oksimorfon için kantitatif analiz doğruluğunu etkilediğini göstermişlerdir.

<sup>1</sup> Dr. Öğrencisi, Çukurova Üniversitesi, Bağlılık ve Adli Bilimler Enstitüsü, asliatsy@gmail.com

<sup>2</sup> Arş. Görevlisi, Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Adli Tıp AD, ismailethemgoren@gmail.com

<sup>3</sup> Doç. Dr., Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Adli Tıp AD, nebiled@hotmail.com

Metadon veya amfetamin gibi rasemik bileşiklerin ilgili enantiyomerlerinin farklı fonksiyonlara ve farmakolojik etkilere sahip olması nedeniyle kromatografik olarak ayrılması bu maddelerin farmako/toksiko-kinetiklerinin değerlendirilmesi açısından önemlidir. Rasemik karışım analizleri, basit bir yorumlamayı dahi değiştirebilmektedir (36).

GC/MS, genellikle çoğu ilaç için kesin tanımlama olarak kabul edilir ve en iyi doğrulayıcı bilgiyi sağlamaktadır. Ayrıca, LC/MS veya LC/MS/MS ise, suistimal ilaçlar da dahil olmak üzere çeşitli analit kategorilerinin ön tarama ve doğrulayıcı analizinde kullanılmaktadır. Yüksek seçiciliği ve özgüllüğü, öncüden ürüne geçişlere dayanan ve seçilen reaksiyon izleme modunda gerçekleştirilen LC/MS/MS, en çok kullanılan saptama ve niceleme tekniğidir (37). Kromatografik analizlerde ana ilaçla birlikte majör metabolitlerin ve bozunma ürünlerinin belirlenmesi, artefaktlar nedeniyle verilerin yanlış yorumlamaların önüne geçmek için gereklidir (38). Böyle analizler, bozulmamış ilacı potansiyel ayırışma ürünlerinden doğru ve seçici bir şekilde ayırt edebilen analizlerdir. Ayrıca, alıkonma zamanı, göreceli pik alanları dahil analitin tanımlanması için kalite kontrol numunelerinin analizi ve diğer analitik parametrelerin mümkün olduğunca geniş tutulması, oluşabilecek artefaktların önleme stratejileri olarak sıralanabilir.

## Sonuç

Artefaktlar, antemortem ve postmortem toksikolojinin ayrılmaz bir parçası olarak kabul edilmelidir ve sıklıkla analitik sonuçların yorumlanmasında dikkatle yaklaşmak gerekmektedir. Analitik artefaktların varlığı, toksikolojik analizlerin örnek hazırlanmasından başlayıp nihai raporun hazırlanmasına kadar süren tüm aşamalarında, yalnızca analist yaklaşımının yeterli olmadığını ve bu artefaktların deneyimli adli toksikologlar tarafından değerlendirilmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır.

## KAYNAKLAR

1. Bergeron A, Furtado M, Garofolo F. Importance of using highly pure internal standards for successful liquid chromatography/tandem mass spectrometric bioanalytical assays. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 2009;23: 1287–1297. doi:10.1002/rcm
2. West R, West C, Crews B, et al. Anomalous observations of hydrocodone in patients on oxycodone. *Clinica Chimica Acta*. Elsevier B.V.; 2011;412(1–2): 29–32. doi:10.1016/j.cca.2010.08.029
3. West R, Crews B, Mikel C, et al. Anomalous Observations of Codeine in Patients on Morphine. *Therapeutic Drug Monitoring*. 2009;31(6): 776–778. doi:10.1097/FTD.0b013e3181c1082a
4. Herndon RL, Wade NA. *Poster P-132 Presented at the SOFT-TIAFT Meeting*. 2011.

5. *Medical Review Officer (MRO) XXI*. [Online] Medical Review Officer (MRO) Alert. [https://www.samhsa.gov/workplace/drug-testing#Medical Review Officer \(MRO\) Resources](https://www.samhsa.gov/workplace/drug-testing#Medical_Review_Officer_(MRO)_Resources)
6. Tompsett SL. The Volatility of Amphetamine Base and Some Related Compounds. *Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine*. 1971;8(1-6): 115-116. doi:10.1177/000456327100800127
7. Logan BK. Methamphetamine - Effects on Human Performance and Behavior. *Forensic Science Review*. 2002;14: 134-151.
8. Weingarten HL, Trevias ER. Analysis of phencyclidine in blood by gas chromatography, radioimmunoassay, and enzyme immunoassay. *Journal of Analytical Toxicology*. 1982;6(2): 88-90. doi:10.1093/jat/6.2.88
9. Naso-Kaspar CK, Wyman JF, Clark CR, et al. In vitro formation of acetylmorphine from morphine and aspirin in postmortem gastric contents and deionized water. *Journal of Analytical Toxicology*. 2013;37(8): 500-506. doi:10.1093/jat/bkt064
10. Wu AHB, Wong SS, Johnson KG, et al. The conversion of ephedrine to methamphetamine and methamphetamine-like compounds during and prior to gas chromatographic/mass spectrometric analysis of CB and HFB derivatives. *Biological Mass Spectrometry*. 1992;21(6): 278-284. doi:10.1002/bms.1200210603
11. Mahmoud AE, Stanford DF, Sherman D, et al. A procedure for eliminating interferences from ephedrine and related compounds in the gc/ms analysis of amphetamine and methamphetamine. *Journal of Analytical Toxicology*. 1992;16(2): 109-111. doi:10.1093/jat/16.2.109
12. Paul BD, Past MR, Mc Kinley RM, et al. Amphetamine as an artifact of methamphetamine during periodate degradation of interfering ephedrine, pseudoephedrine, and phenylpropanolamine: An improved procedure for accurate quantitation of amphetamines in urine. *Journal of Analytical Toxicology*. 1994;18(6): 331-336. doi:10.1093/jat/18.6.331
13. Galloway FR, Bellet NF. Methadone conversion to EDDP during GC-MS analysis of urine samples. *Journal of Analytical Toxicology*. 1999;23(7): 615-619. doi:10.1093/jat/23.7.615
14. Lewis RJ, Angier MK, Johnson RD. False carbamazepine positives due to 10,11-dihydro-10-hydroxycarbamazepine breakdown in the GC-MS injector port. *Journal of Analytical Toxicology*. 2014;38(8): 519-523. doi:10.1093/jat/bku064
15. Fu S, Lewis J, Wang H, et al. A novel reductive transformation of oxazepam to nordiazepam observed during enzymatic hydrolysis. *Journal of Analytical Toxicology*. 2010;34(5): 243-251. doi:10.1093/jat/34.5.243
16. Hearn WL, Walls HC. Introduction to post-mortem toxicology. In: Karch SB (ed.) *Drug Abuse Handbook*. 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press; 2007. p. 965-975.
17. Richardson T. Pitfalls in forensic toxicology. *Annals of Clinical Biochemistry*. 2000;37(1): 20-44. doi:10.1258/0004563001901498
18. Drummer OH. Postmortem toxicology of drugs of abuse. *Forensic Science International*. 2004;142(2-3): 101-113. doi:10.1016/j.forsciint.2004.02.013
19. Leikin JB, Watson WA. Post-mortem toxicology: What the dead can and cannot tell us. *Journal of Toxicology - Clinical Toxicology*. 2003;41(1): 47-56. doi:10.1081/CLT-120018270
20. Skopp G. Preanalytic aspects in postmortem toxicology. *Forensic Science International*. 2004;142(2-3): 75-100. doi:10.1016/j.forsciint.2004.02.012
21. Høiseth G, Karinen R, Christophersen A, et al. Practical use of ethyl glucuronide and ethyl sulfate in postmortem cases as markers of antemortem alcohol ingestion. *International Journal of Legal Medicine*. 2010;124(2): 143-148. doi:10.1007/s00414-009-0393-0
22. Kugelberg FC, Jones AW. Interpreting results of ethanol analysis in postmortem specimens: A review of the literature. *Forensic Science International*. 2007;165(1): 10-29. doi:10.1016/j.forsciint.2006.05.004

23. CORRY JEL. Possible Sources of Ethanol Ante- and Post-mortem: its Relationship to the Biochemistry and Microbiology of Decomposition. *Journal of Applied Bacteriology*. 1978;44(1): 1–56. doi:10.1111/j.1365-2672.1978.tb00776.x
24. Boumba VA, Economou V, Kourkoumelis N, et al. Microbial ethanol production: Experimental study and multivariate evaluation. *Forensic Science International*. Elsevier Ireland Ltd; 2012;215(1–3): 189–198. doi:10.1016/j.forsciint.2011.03.003
25. Høiseth G, Bernard JP, Karinen R, et al. A pharmacokinetic study of ethyl glucuronide in blood and urine: Applications to forensic toxicology. *Forensic Science International*. 2007;172(2–3): 119–124. doi:10.1016/j.forsciint.2007.01.005
26. Meatherall RC, Fraser AD. CEDIA dau Benzodiazepine screening assay: A reformulation. *Journal of Analytical Toxicology*. 1998;22(4): 270–273. doi:10.1093/jat/22.4.270
27. Kupiec T, DeCicco L, Spiehler V, et al. Choice of an ELISA assay for screening postmortem blood for amphetamine and/or methamphetamine. *Journal of Analytical Toxicology*. 2002;26(7): 513–518. doi:10.1093/jat/26.7.513
28. Tenore PL. Advanced urine toxicology testing. *Journal of Addictive Diseases*. 2010;29(4): 436–448. doi:10.1080/10550887.2010.509277
29. Taylor K, Elliott S. A validated hybrid quadrupole linear ion-trap LC-MS method for the analysis of morphine and morphine glucuronides applied to opiate deaths. *Forensic Science International*. 2009;187(1–3): 34–41. doi:10.1016/j.forsciint.2009.02.011
30. Skopp G, Pötsch L, Klingmann A, et al. Stability of morphine, morphine-3-glucuronide, and morphine-6-glucuronide in fresh blood and plasma and postmortem blood samples. *Journal of Analytical Toxicology*. 2001;25(1): 2–7. doi:10.1093/jat/25.1.2
31. Shipkova M, Armstrong VW, Oellerich M, et al. Acyl glucuronide drug metabolites: Toxicological and analytical implications. *Therapeutic Drug Monitoring*. 2003;25(1): 1–16. doi:10.1097/00007691-200302000-00001
32. Wester R, Noonan P, Markos C, et al. Identification of carbamate derivatives formed during chloroform extraction of tricyclic antidepressants from urine. *Journal of Chromatography A*. 1981;209(3): 463–466. doi:10.1016/S0021-9673(00)80618-4
33. Mohammadi A, Amini M, Hamedani MP, et al. Study of the formation of artifacts following dichloromethane reaction with some nitrogenous drugs. *Asian Journal of Chemistry*. 2008;20(7): 5573–5580.
34. Wille SMR, Lambert WEE. Recent developments in extraction procedures relevant to analytical toxicology. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2007;388(7): 1381–1391. doi:10.1007/s00216-007-1294-z
35. Juhascik M, Gleba J, Jenkins A. Formation of benzoylecgonine isopropyl ester following solid-phase extraction. *Journal of Analytical Toxicology*. 2012;36(2): 141–143. doi:10.1093/jat/bks001
36. Trafton JA, Ramani A. Methadone: A new old drug with promises and pitfalls. *Current Pain and Headache Reports*. 2009;13(1): 24–30. doi:10.1007/s11916-009-0006-0
37. Sauvage FL, Gaulier JM, Lachâtre G, et al. Pitfalls and prevention strategies for liquid chromatography-tandem mass spectrometry in the selected reaction-monitoring mode for drug analysis. *Clinical Chemistry*. 2008;54(9): 1519–1527. doi:10.1373/clinchem.2008.105478
38. Gadkariem EA, El-Obeid HA, Abounassif MA, et al. Effects of alkali and simulated gastric and intestinal fluids on danazol stability. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2003;31(4): 743–751. doi:10.1016/S0731-7085(02)00660-X