

ADLİ KİMYA

SAÇTA UYUŞTURUCU VE ALKOL ANALİZİ

BURCU ALPTEKİN 090090025

ILGIN İŞILTAN 090080402

NESLİŞAH TÜZER 090080706

TİJEN DUVACI 090080382



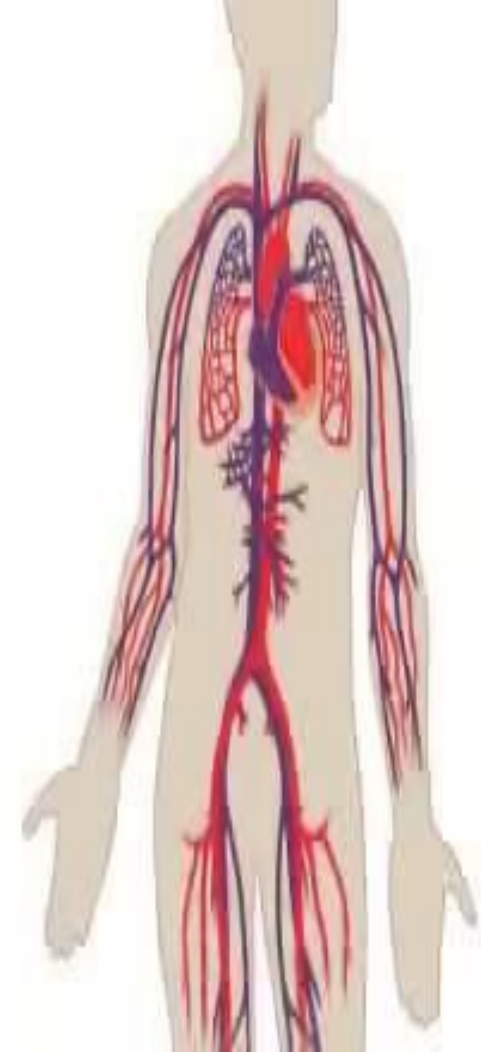
SAÇTA MADDE ANALİZİ

Saçta uyuşturucu, uyarıcı madde ve uyutucu maddelerin (esrar, eroin, kokain, ecstasy, amfetamin, metamfetamin vs.) kullanıp kullanmadığının tespit edilmesi için bilimsel bir yöntem uygulanır.



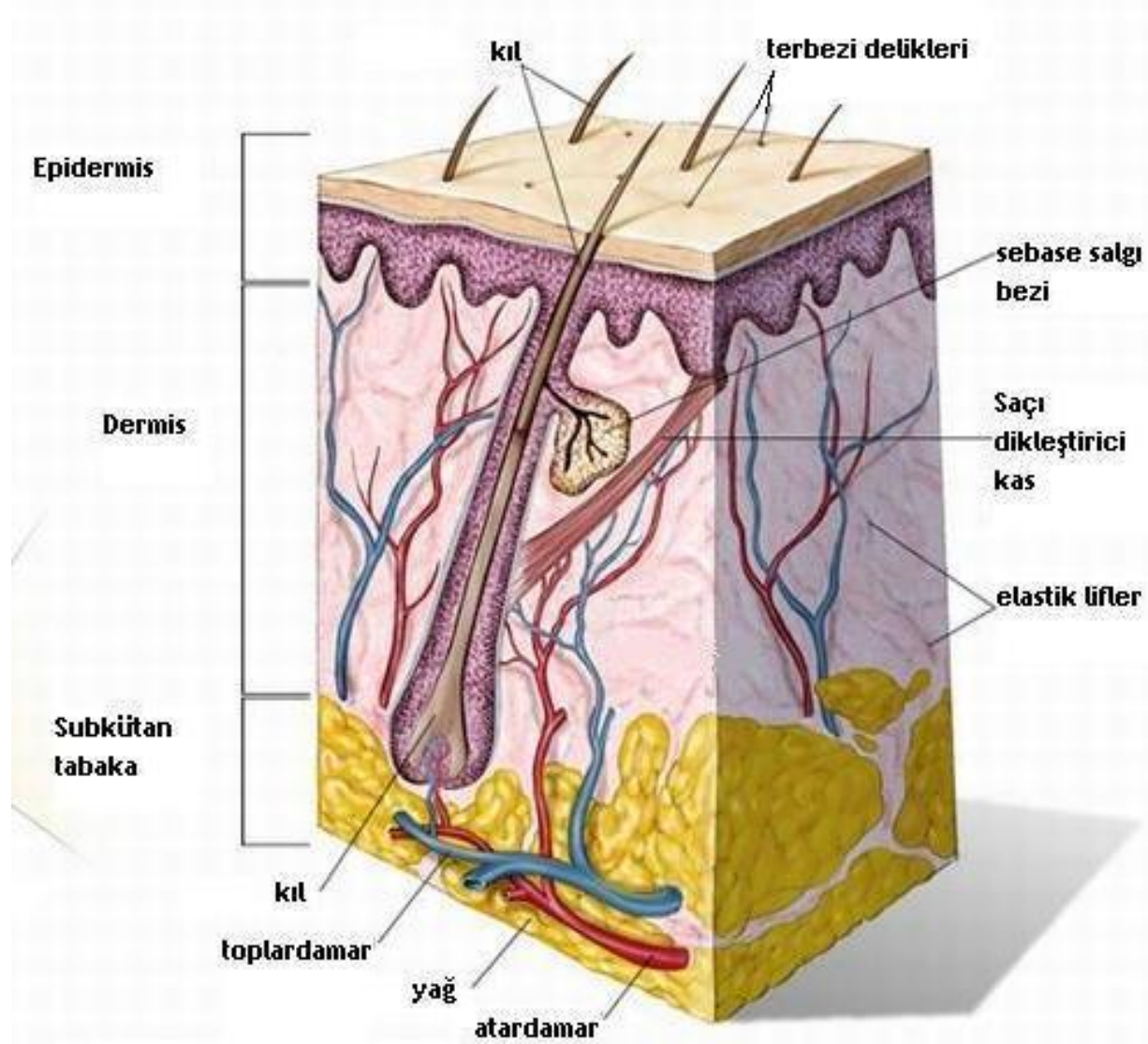
VÜCUDA ALINAN UYUŞTURUCU MADDELER

- Kullanılan maddeler, dolaşım sisteminde, kanla birlikte taşınırlar.
- Kan dolaşımından gelen maddeler saçlarda biriktirilir.

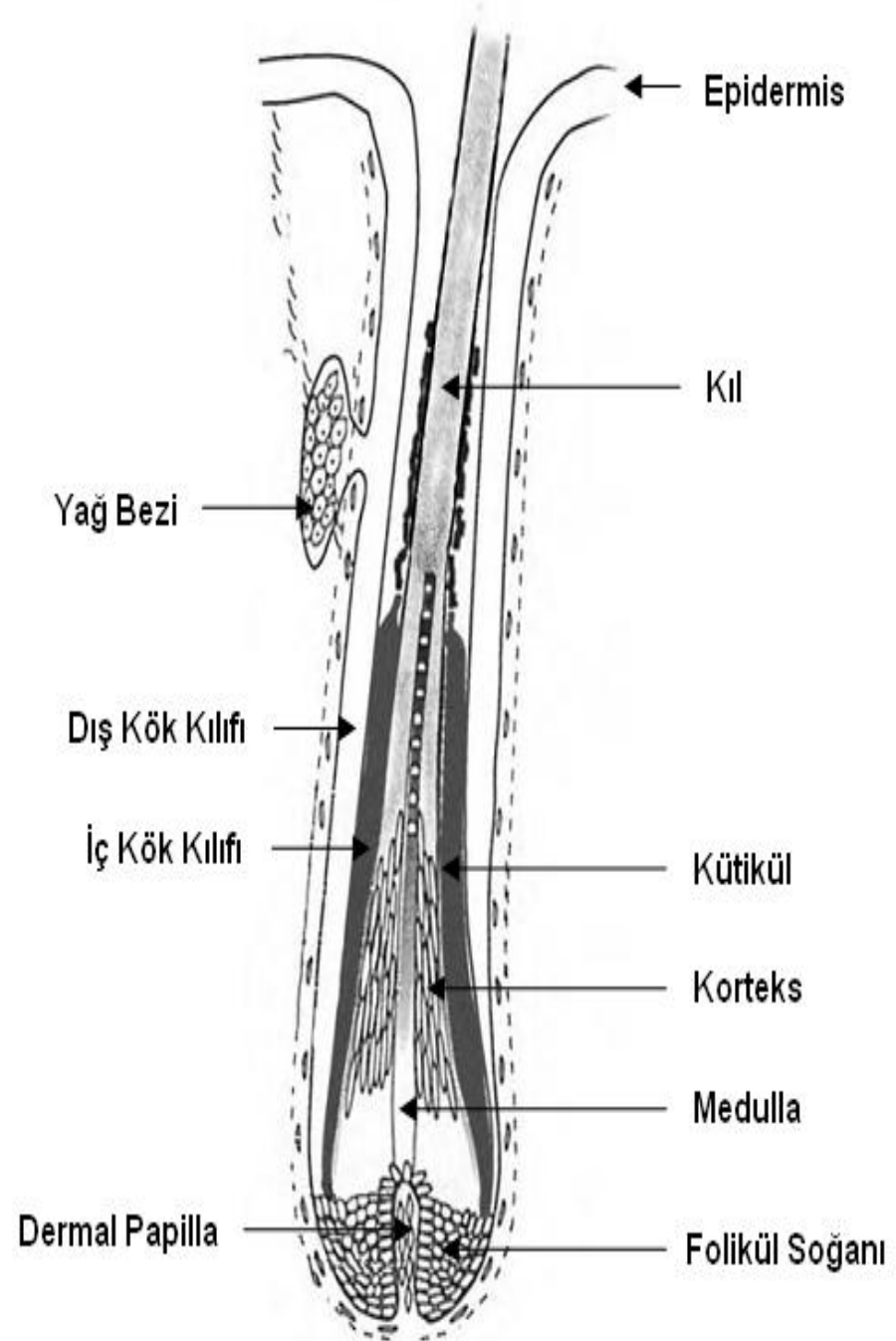


KILIN ANATOMİSİ

Mezenkim hücrelerinin dermis dokuya doğru, kıvrık bir şekilde uzamasıyla meydana gelen folikülden kıl adı verilen cansız uzantılar gelişir.

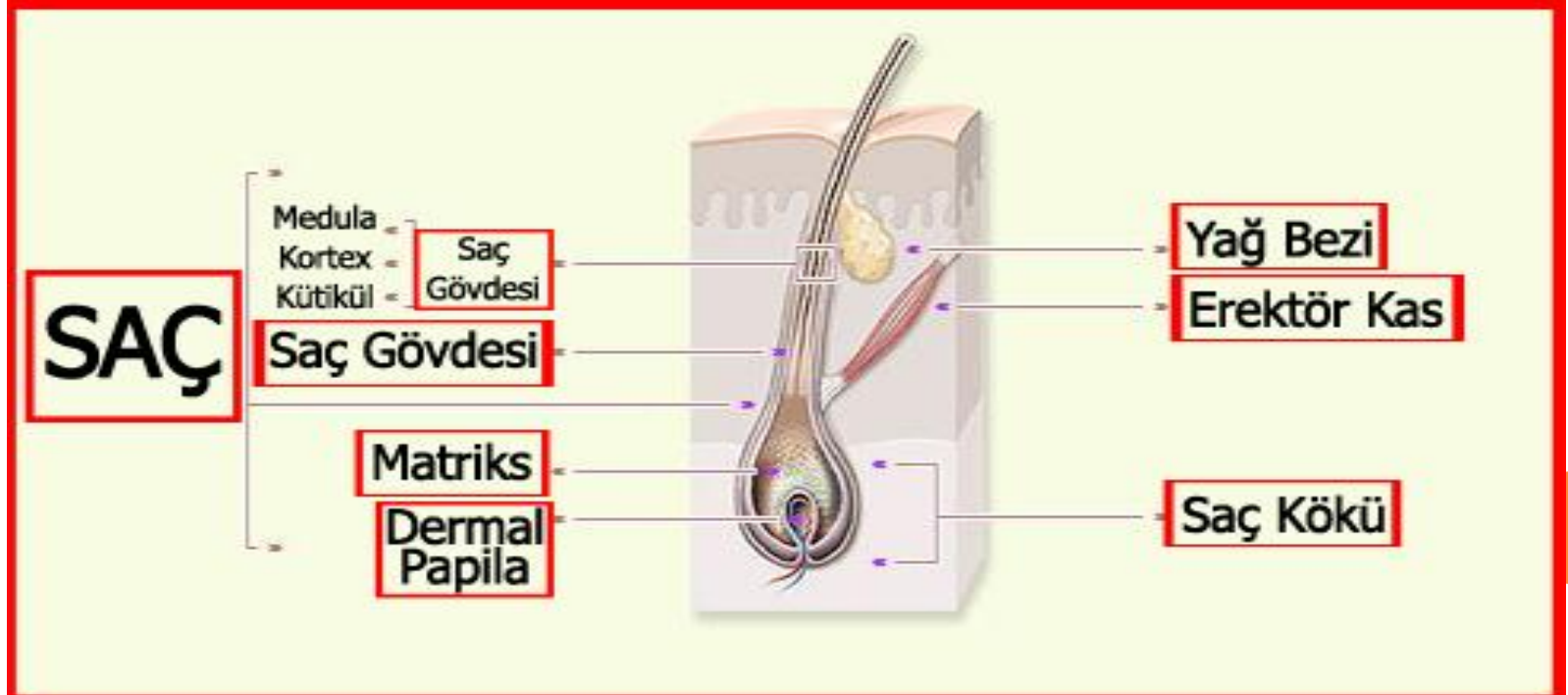


- Saçlar, uzun, keratin içerikli yapılardan oluşur.
- Keratin sıralı dizilen aminoasitlerin birleşmesiyle oluşmuş dayanıklı bir moleküldür.
- Epidermis derinin en dış tabakasını oluşturur. Her saç teli bu tabakadan çıkarak uzar.
- Saç iki bölümden oluşur: Kök ve Gövde



Kök :

- Saç teli buradan büyümeye başlar.
- Saç kökünün çevresinde ve bitişğinde salgı bezleri bulunur.
- Salgı bezleri saçları kayganlaştıran sebum salgırlar.



Gövde :

3 tabakadan oluşur

Medulla(Medula): En içteki tabakayı oluşturur.

Papillayı çevreleyen matriks hücrelerinden gelişir.

Korteks(Cortex): Saçın orta tabakasını oluşturur. Matriksten meydana gelen ve yüzeye doğru göç ederken keratinize olan korteks hücrelerden oluşur .

Kütikül(Cuticle): Saç gövdesinin ince ve yarısaydam en dış tabakasıdır. Keratinleşmiş yassı hücrelerden oluşur. Bunlar ölü hücrelerdir.



Medula



Kortex



Kütikül

KİMYASAL BİLEŞENLERİ

- Kıl, bazı kimyasal fonksiyonel gruplar (asidik, bazik ve peptit bağları) içeren çapraz bağlı bir polimerik ağdır.
- **İnsan kılı kimyasal bileşenleri:**

hidrokarbon yan zincir aminoasidi (glisin)

hidroksil yan zincir aminoasidi (treonin)

primer amid yan zincir aminoasidi (aspartik ve glutamik asit)

dibazik aminoasit (lizin)

disülfid aminoasit (sistein)

fenolik aminoasit (tirozin) içerir.



- Sa kökünde tutulan maddeler köklerden dışarı doğru büyüyen saçların yapısına katılarak, saç teli gövdesinde bulunan keratin dokuda birikir.

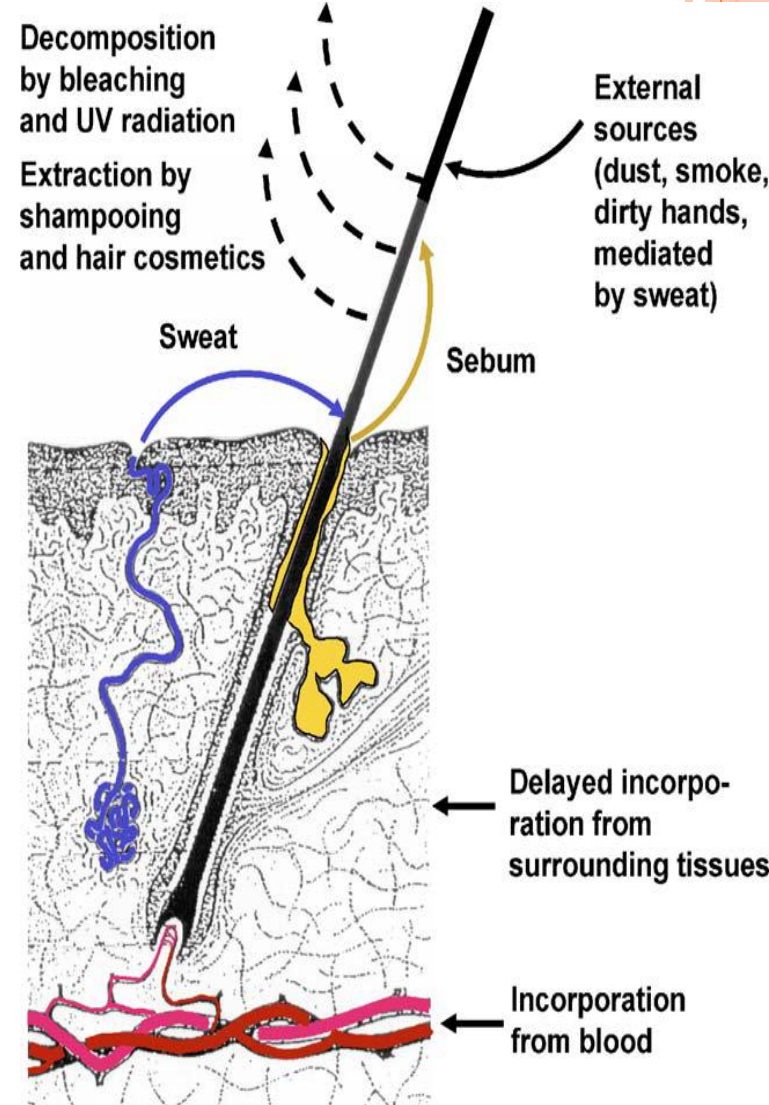


UYUŞTURUCUNUN BIRIKIMI

Maddelerin kıla geçiş yolları

- Termal papillayı besleyen kan akışından aktif ya da pasif difüzyon
- Ter ya da diğer salgılardan büyüyen ya da olgun kıl fiberlerine difüzyon
- Olgun kıl hücresine dışarıdan ilaç buharı ya da tozlarının difüzyonuyla gerçekleşir.

Uyuşturucu bir kez hücre içine girdiğinde protonlanarak plazmaya dönüşü engellenir. Ayrıca uyuşturucuların hücre proteinlerine bağlanması da plazmaya dönüşünü engelleyici bir etki gösterir.



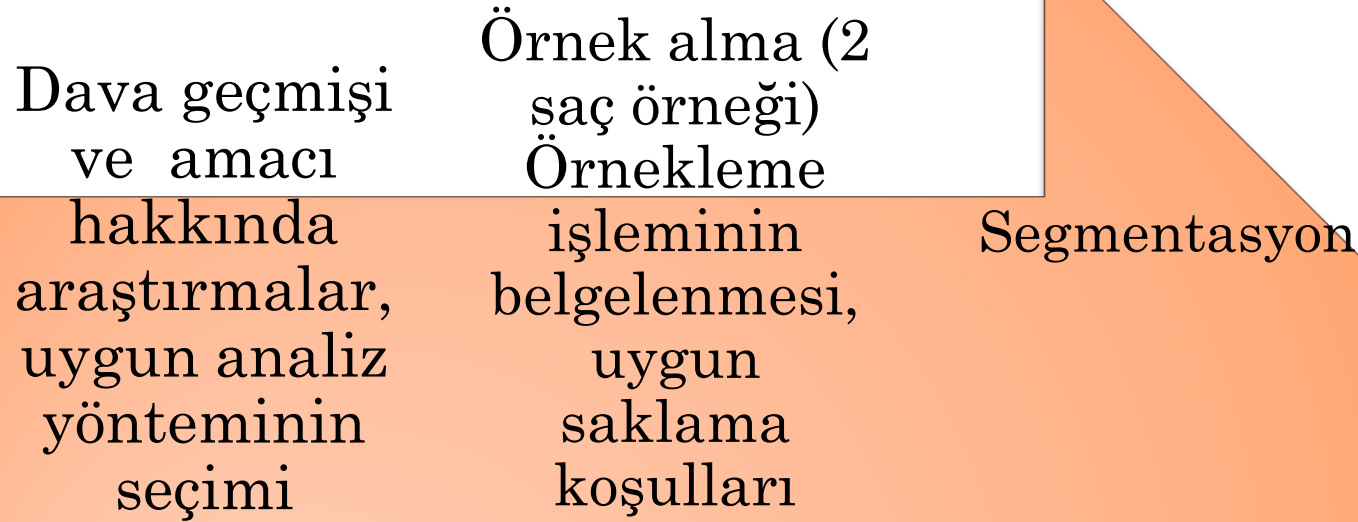
SAÇIN BÜYÜMESİ



- Sa aylık olarak yaklaşık 1 cm kadar uzar ve 2-6 yıl boyunca bu büyümeyi sürdürebilir. Sonrasında 1-1,5 aylık sürede süresinde büyüme sona erer ve saç teli ölür. Sağlıklı bir insanda ortalama günde 100 saç teli dökülmesi normal olarak kabul edilir.



SAÇ ANALİZİNİN ADIMLARI



SAÇ ANALİZİNİN ADIMLARI

Yıkama ile
dekontaminas
yon, saklama
ve gerekli ise
yıkama
solusyonlarını
n analizleri

Küçük
parçalara
ayırma ya da
öğütme

Saç
matriksinin
ekstraksiyo
nu ya da
parçalanma
sı



SAÇ ANALİZİNİN ADİMLARİ

Saç matriksinin ekstraksiyonu ya da parçalanması



Saç ekstraktını yıkama



Immunoassay ile pre-test

GC-MS, GC/MS/MS ya da LC/MS/MS ile kalitatif ya da kantitatif analiz



KARŞILAŞTIRALIM...

- Saç, idrar ve kana göre daha avantajlı; toplanması kolay, yayılmayan, stabil, uzun saklanması kolay...

Nedir bu farklar?

- Eğer bir idrar testi bir ilaç için pozitifse, saç analizi tek kullanım mı yoksa uzun süreli kullanım mı olduğunu ayırt edebilir,
- Segmentler şeklinde yapılabilir saç analizi ilaç kullanım kaydıyla ilgişi daha doğru bilgi verir ve ilaç alımının sıklığını ve geçmişini gösterir.
- Tekrar analiz yapmak için defalarca saç örneği toplanabilir
- Ana ilacın saçtaki stabilitesi dış kaynakları doğrulamadan yardım edebilir.



SAÇ ANALİZİ

- İlacın kullanım zamanı ve sıklığı hakkında bilgi verir.
- «Date-rape» olaylarında, kriminal zehirlenmelerde belli ilacın saç segmentindeki tespiti, ne zaman alındığı gibi bilgiler soruşturma süresince de faydalı olmaktadır.
- Ehliyete el konulma ve ehliyetin iadesi durumlarında «tüketim davranışını» gözlemek için güçlü bir araç
- Özellikle opiatların tespiti için saç analizi araştırılmış



İLAÇIN SAÇTA BULUNMA KONSANTRASYONU

- İlaçların saçta bulunma konsantrasyonları, ilaçların fizikokimyasal özelliklerine göre değişiyor
- İlacın konsantrasyonu ile saç rengi arasında bir ilişki bulunmaktadır. Siyah saçta depolanan ilaç miktarı, kahverengi ve beyaz örneklerle göre daha fazla  saç gövdesinde ilaç birikiminde melanin afinitesi baskılayıcı etken



ÖRNEK GERÇEKTEN SAÇ MI?

- Bir sebzeye ait bir tel mi, ya da sentetik mi?
- Kimyasal test saçın yanma özelliğine dayanır.
- Sebze lifleri daha kolay yanar, odun yanması gibi bir koku verir ve keskin bir yanık uç oluşur.
- Saçın alev alev yanması zordur, yanık (kuş)tüy kokusu verir ve yanık saç erimiş ya da yuvarlak şekilde olur.
- Mikroskopi: Saç dallanmadan büyür, sebze lifleri sıkı demetler halinde dallanmış yapıdadır.



ÖRNEK TOPLANMASI

- Mümkün olduğunca kafa derisine yakın yerden örnek alınmalı (SoHT), bu bölge büyüme oranında en az artış gösteren bölgedir.
- Baş kılı tercih edilir ama aksiler (koltuk altı) ya da kasık kısmından da örnek alınabilir.
- Oda sıcaklığında, alüminyum folyo, kağıt zarf ya da plastik tüpte saklanabilir.



İLAÇLARIN SAÇ MATRIKSİNDEN AYRILMASI

- Organik ilaçları ayırmak için direkt bir metot yok. Bu yüzden ilaçlar saç matriksinin kendiliğinden çözünmesi ya da parçalanması ile elde edilmeli
- Doğru tercih; ilacın kimyasal yapısı ve örnek hazırlamada kullanılan kimyasallara duyarlılığı göz önüne alınmalı
- Örnek hazırlama, çeşitli ilaç türlerine uygulanabilir olmalı



EKSTRAKSİYON METOTLARı

- Metanol ile,
- Sulu asit ya da tampon çözelti ile,
- Üre veya triglikolat ile muamele ederek,
- Süper kritik sıvı ekstraksiyonu ile,
- Enzimatik parçalanmayla,
- Sulu NaOH ile saç parçalanarak yapılabilir.



TESPIT VE MİKTAR BELİRLEME

- İmmunokimyasal teknikler:
 - ✓ İlk saç analizleri (**RIA**) ile yapılmış,
 - ✓ Sınırlı sayıda ilaç ya da metabolit analiz edilebiliyor
 - ✓ Son yıllarda opiatlar, kokain, kannabinoidler, benzodiazepinler, metadonlar için **ELISA**, teknikleri geliştirilmiş.
 - ✓ Yanlış negatiflere duyarlı olmalı,
 - ✓ Doğru sonuçlar GC/MS ile doğrulanmalı



TESPIT VE MİKTAR BELİRLEME

VMA-T

- Keratinize matrislerdeki (saç gibi) ilaçlar için tasarlanmış uygun bir tarama metodu
- SoHT (Society of Hair Testing) tarafından önerilen «cut-off» değerleri kullanılarak VMA-T methodunun iyi duyarlılıkla negatif ve pozitif önerleri ayırdığı görülmüş
- Zaman ve kaynak kaybı önlemek amacıyla, arta kalan VMA-T ekstraksiyon solüsyonunun LC-MS ile teyit aşamasında tekrardan kullanılabileceği görülmüş (kokain hariç)



TESPIT VE MİKTAR BELİRLEME

→ GC/MS

LC/MS/MS

→

Kapiler GC/MS 47 saç analizinde en çok kullanılan metot. Avantajı; yüksek çözünürlükte GC.

SIM= Seçilmiş iyon gözleme modu ile bu iyi özellikler arttırılmış



TESPIT VE MİKTAR BELİRLEME

- Çoğu ilaç ve metabolit, serbest amino, hidroksil ve karboksil uçları sayesinde polar halde bulunur. Bu nedenle, GC/MS öncesi kromatografik davranışı kazanadirmek için saç ekstraktı türevlendirilmeli
- LC/MS, yüksek çözünürlük ve seçiciliğe sahip, türevlendirme gerektirmeyen bir metot. GC/MS ve HPLC için tamamlayıcı bir metot



CUT-OFF DEĞERİ

- Örneğin bu değerde veya bu değer üzerinde pozitif sayılacağı değerdir.
- 2 neden için kullanılırlar; Yanlış pozitif sonuçları önlemek (özellikle immünoassaylerde matriks etkileri ve çapraz reaktiviteye karşı) ve doğru bir analitik sonucun belli bir sebepten (ilgili ilaç kullanımı) olup olmadığına karar vermek için kullanılır.
- Yüksek cut-off değeri çevresel etki ve yanlış pozitif riskini azaltıyor.
- Düşük cut-off değeri ile daha fazla ilaç kullanıcı belirlenebilir ama daha pasif etkilenmiş kişileri ayırt ederken risk var.



UYUŞTURUCU VAKALARI

* Begüm Varal Vakası



Böyle
geldi

Böyle
çıktı

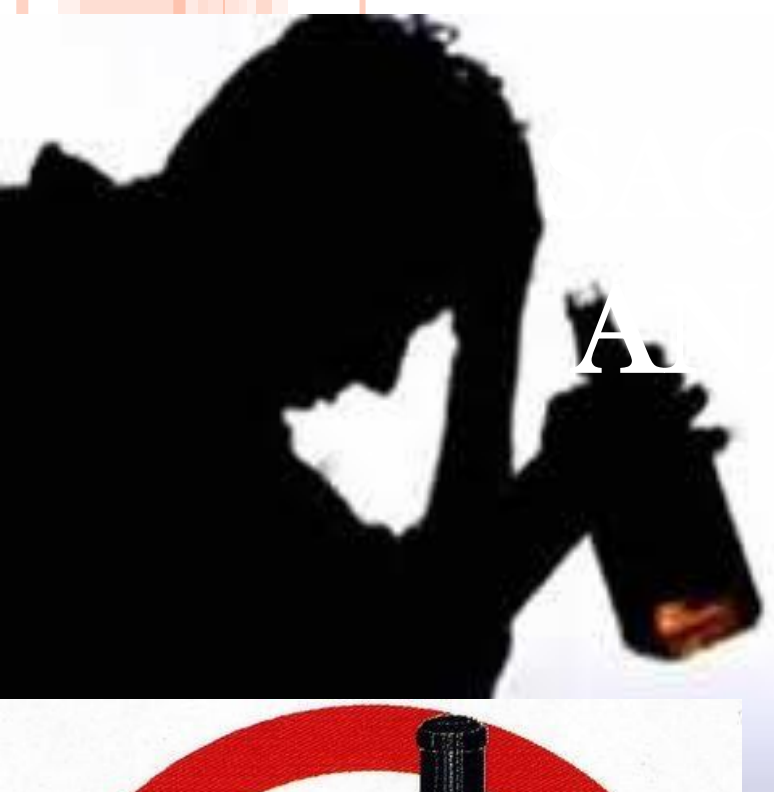
* Serdal A. Vakası



* Burçin Bircan Vakası



	kan	idrar
Eroin metaboliti olan Morfin ve türevleri	776ng/ml	9873ng/ml
Carbamazepin etken maddeli ilaç	3,1ng/ml	-
Kokain metaboliti metylecgonini n	3206ng/ml	-





A person is shown from the chest up, holding a large number of alcohol bottles of various shapes and sizes over their head with both hands. The person's face is visible in the foreground, looking directly at the camera. The background is a solid light blue color.

Alkol bir çok ülkede yasal olarak kullanıma açık olan ve diğer bağımlılık yapan maddelere göre çok daha sık kullanılan bir bileşiktir.

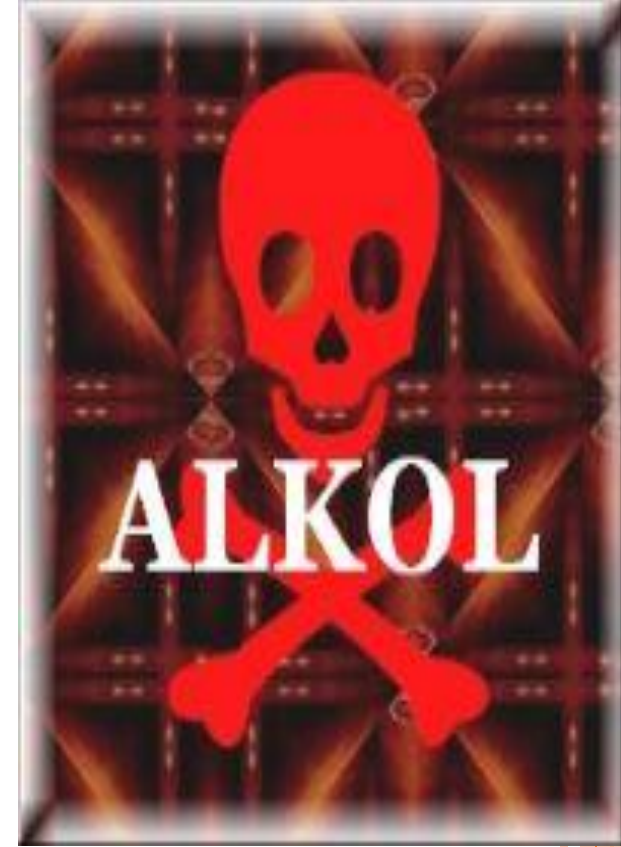
- ❑ Ülkemizde yasal alkol kullanım sınırı: 1,00 promil

1 promil alkol= 100mg alkol/100ml kan

- ❑ İngiltere’de : 80mg alkol/100ml kan

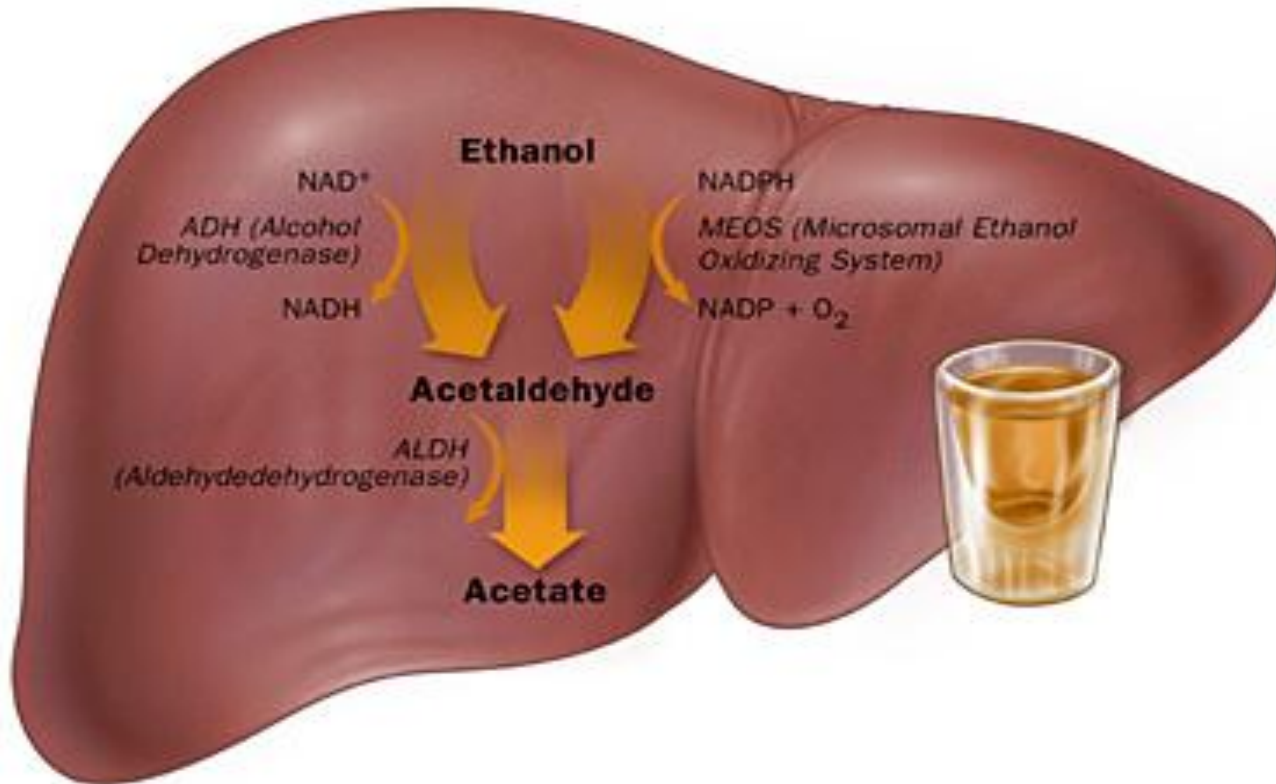
- ❑ Almanya’da :50mg alkol/100ml

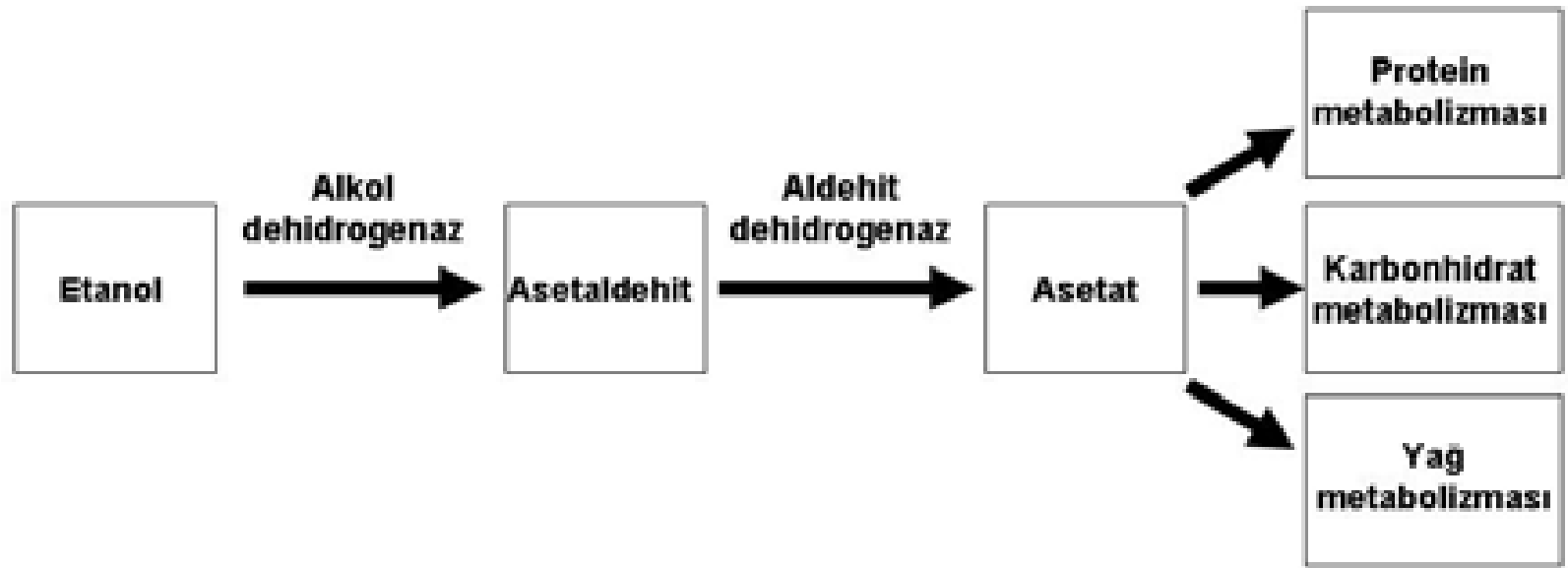
- ✓ En sık kullanılan beşinci zararlı madde
- ✓ İngiltere halkının beştenin kronik alkol problemine sahip
- ✓ Kronik alkol içiciliği sınırı: **Günde 60 gram saf alkol**
- ✓ Psikolojik ve Fizyolojik olarak zararlı etkilere sahip
- ✓ Trafik kazalarının başlıca sebebi



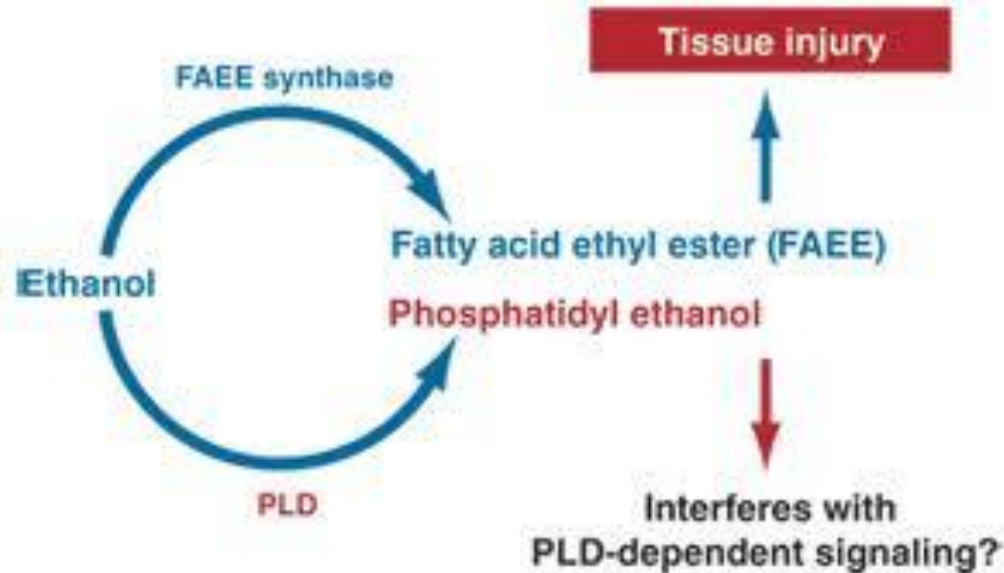
VÜCUTTA ALKOL METABOLİZMASI

- Tüketilen alkol vücutta mide ve bağırsaklardan kana geçer ve ardından enzimler tarafından metabolize edilir.





Vücuttaki Non-Oksidatif Alkol Yolağı



SAÇTA ALKOL ANALİZLERİ

Saçta alkol analizleri genelde sosyal içicileri ve bağımlı olanları birbirinden ayırmak için kullanılır.

- ✓ Kronik Alkol içicileri için rehabilitasyon programları
- ✓ Ulaşım sektöründe çalışan şoför vb.kimselerin analizi
- ✓ Adli olayların açıklanması



Alkolün saçtan doğrudan analizini yapmak mümkün değildir. Saçtan alkol analizi alkolün metabolitlerden yararlanarak yapılır.



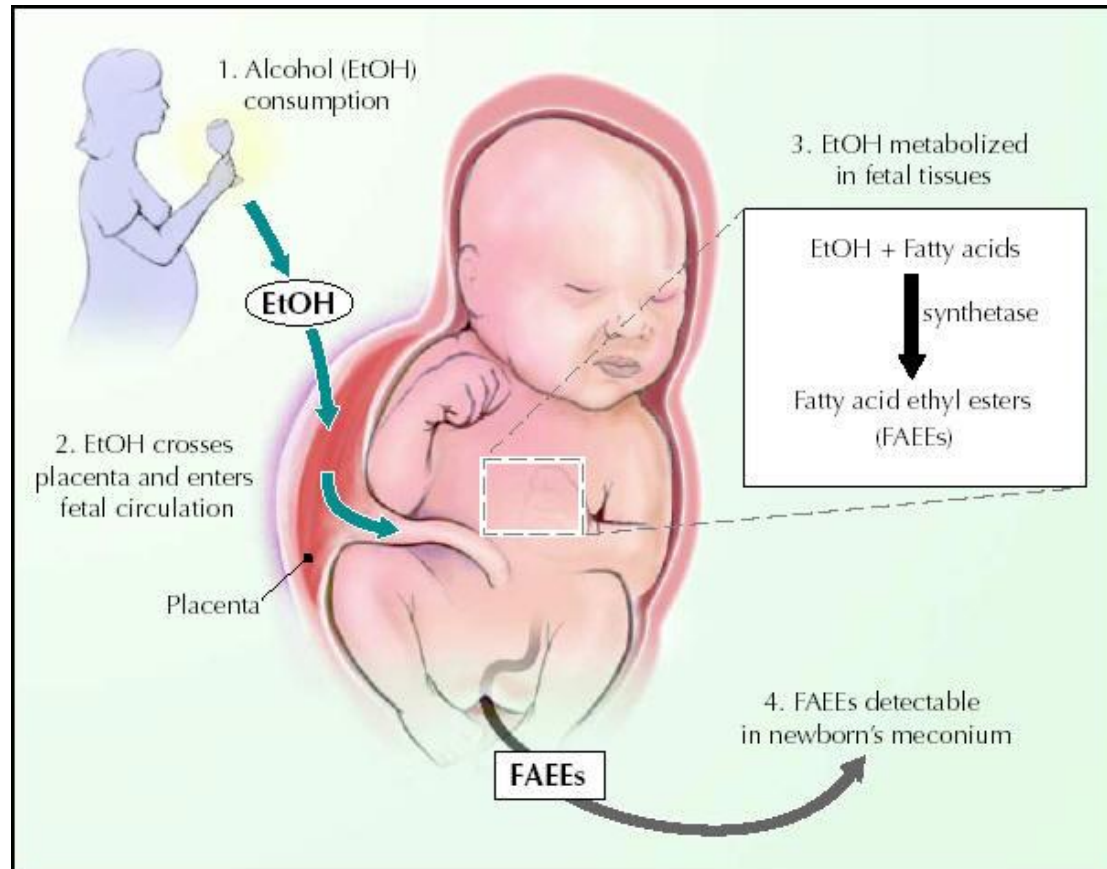
ALKOL METABOLİTLERİ

**Ethyl glucuronide
(EtG)**

**Fatty Acid Ethyl
Esters (FAEEs)**

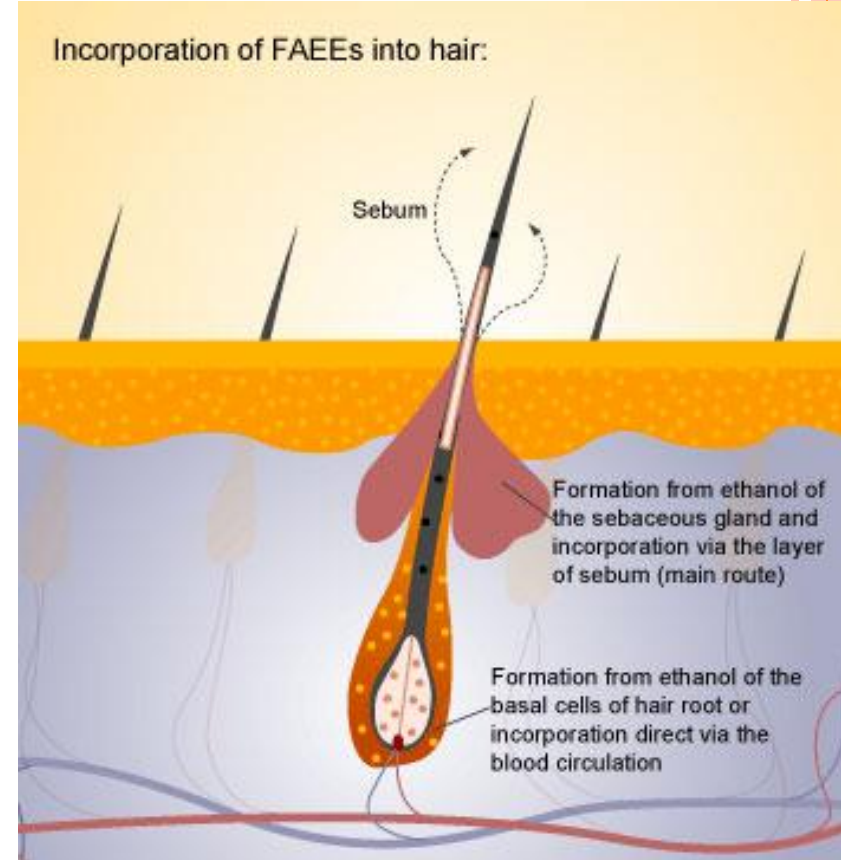
FATTY ACID ETHYL ESTERS (FAEE)

- Yağ asitlerinden, lipoproteinlerden, fosfolipitlerden, trigliseridlerden oluşur.
- Karaciğer, pankreas, kalp, beyaz kan hücrelerinde enzimleri



- Ethyl myristate, Ethyl palmitate, Ethyl oleate Ethyl stearate esterlerin dördünün toplam miktarı tayin miktarı olarak tanımlanır.

- ✓ FAEE'ler dolaşım yoluyla saç köklerine kadar gelirler.
- ✓ Difüzyon yoluyla saçın dış sebuma kısmına geçer ve orda birikir ve
- ✓ Ne kadar alkol o kadar FAEE!



- Saçtaki FAEE analizi için alınacak saç örneği saçın ön kısmından alınmalıdır.



- Saçların suyla yıkanması
- 1 mm'lik parçalara ayrılma
- İstenmeyen yağ asitlerinden kurtulmak için saç n-heptane - dimethylsulfoxide ile yıkama
- **Gas chromatography mass spectrometry (GC-MS)** cihazıyla, ardından da **headspace solid phase microextraction (HS-SPME)** cihazıyla ölçüm

✓ Saçtaki FAEE konsantrasyonu: 0.05 ile 30 ng/mg

✓ Hiç alkol kullanmayanların saç örneklerinde:
0.06 ile 0.037ng/mg

Bunun nedeni;

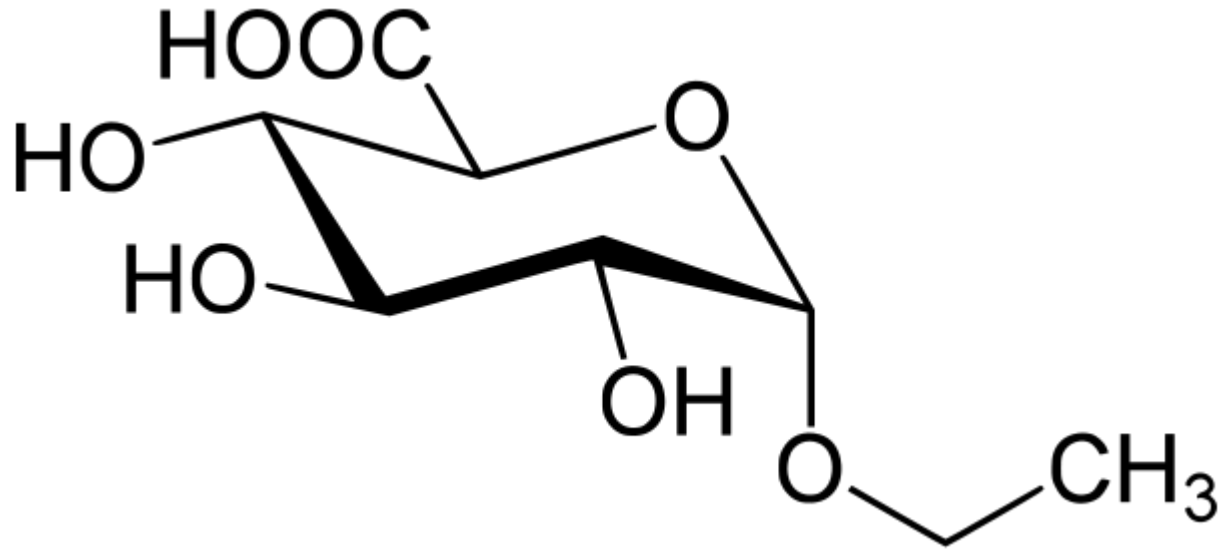
✓ Ethanol içeren şampuanlar, perma malzemeleri,
saç boyaları, saç losyonları

✓ Kronik alkol problem olan bireylerde

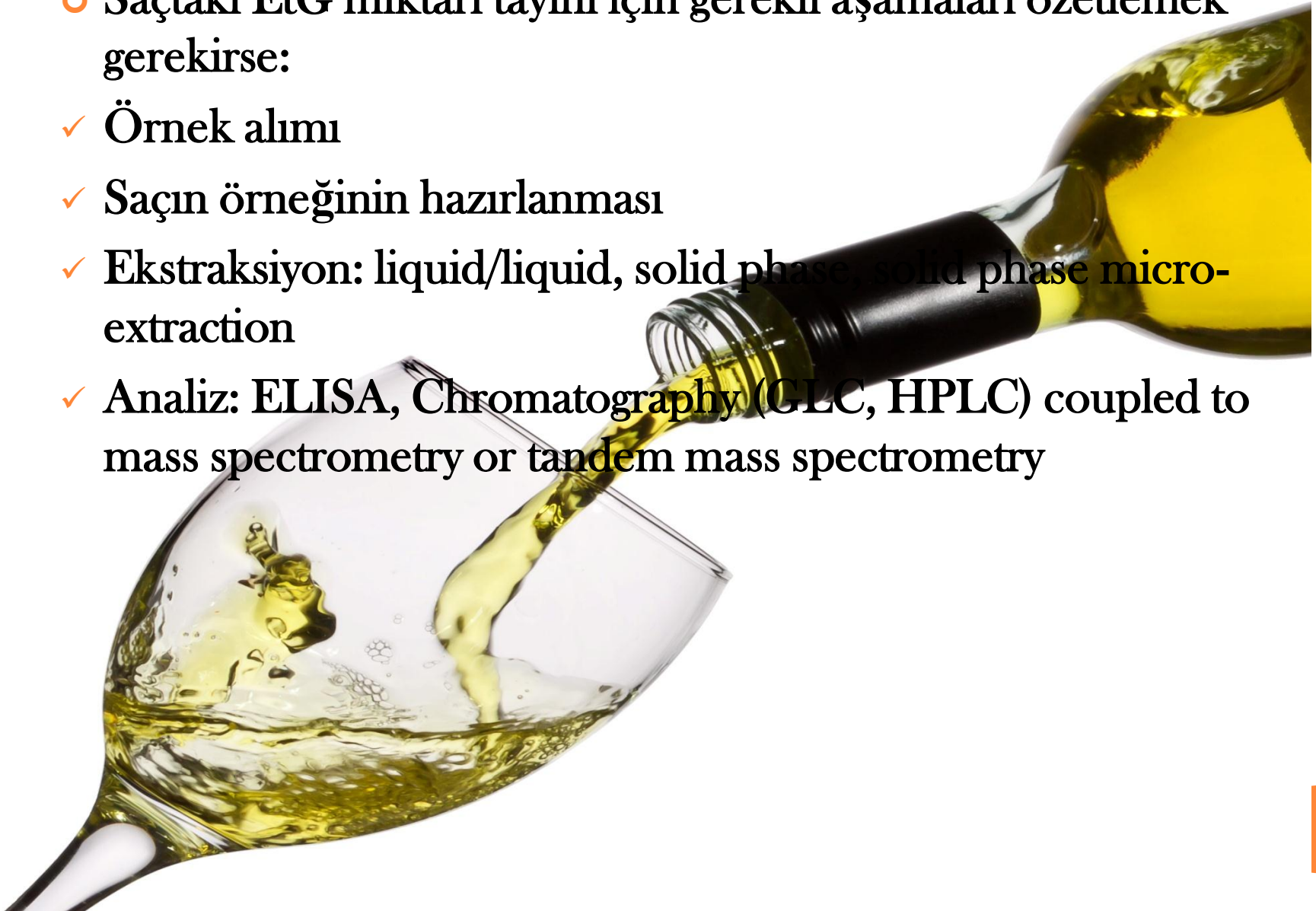
%90 Doğru Sonuç

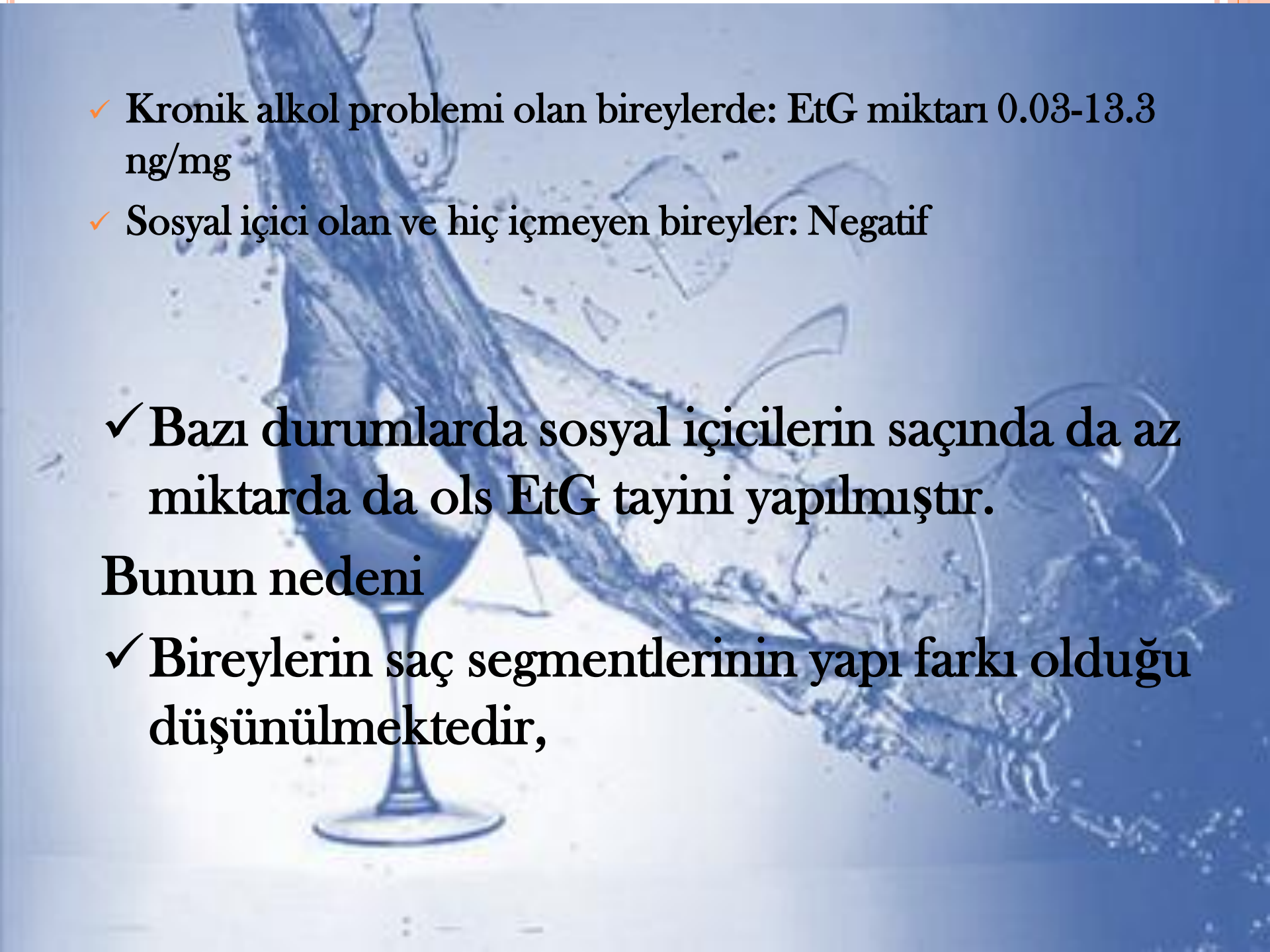
ETHYL GLUCURONIDE (EtG)

- Karaciğer tarafından üretilir
- Ter yoluyla saça geçerek saçta biriken bir alkol metabolitidir.
- Suda çözünebilir
- Ne kadar alkol o kadar EtG!



- Saçtaki EtG miktarı tayini için gerekli aşamaları özetlemek gerekirse:
- ✓ Örnek alımı
- ✓ Saçın örneğinin hazırlanması
- ✓ Ekstraksiyon: liquid/liquid, solid phase, solid phase micro-extraction
- ✓ Analiz: ELISA, Chromatography (GLC, HPLC) coupled to mass spectrometry or tandem mass spectrometry



- 
- ✓ Kronik alkol problemi olan bireylerde: EtG miktarı 0.03-13.3 ng/mg
 - ✓ Sosyal içici olan ve hiç içmeyen bireyler: Negatif

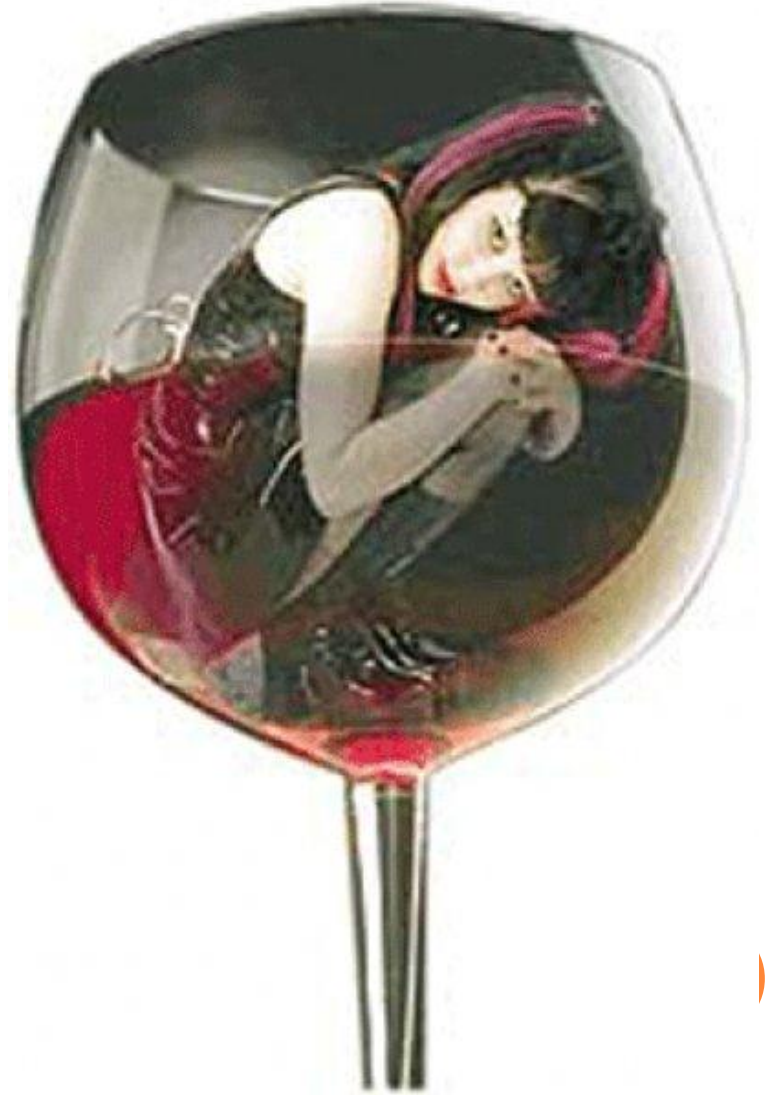
✓ Bazı durumlarda sosyal içicilerin saçında da az miktarda da ols EtG tayini yapılmıştır.

Bunun nedeni

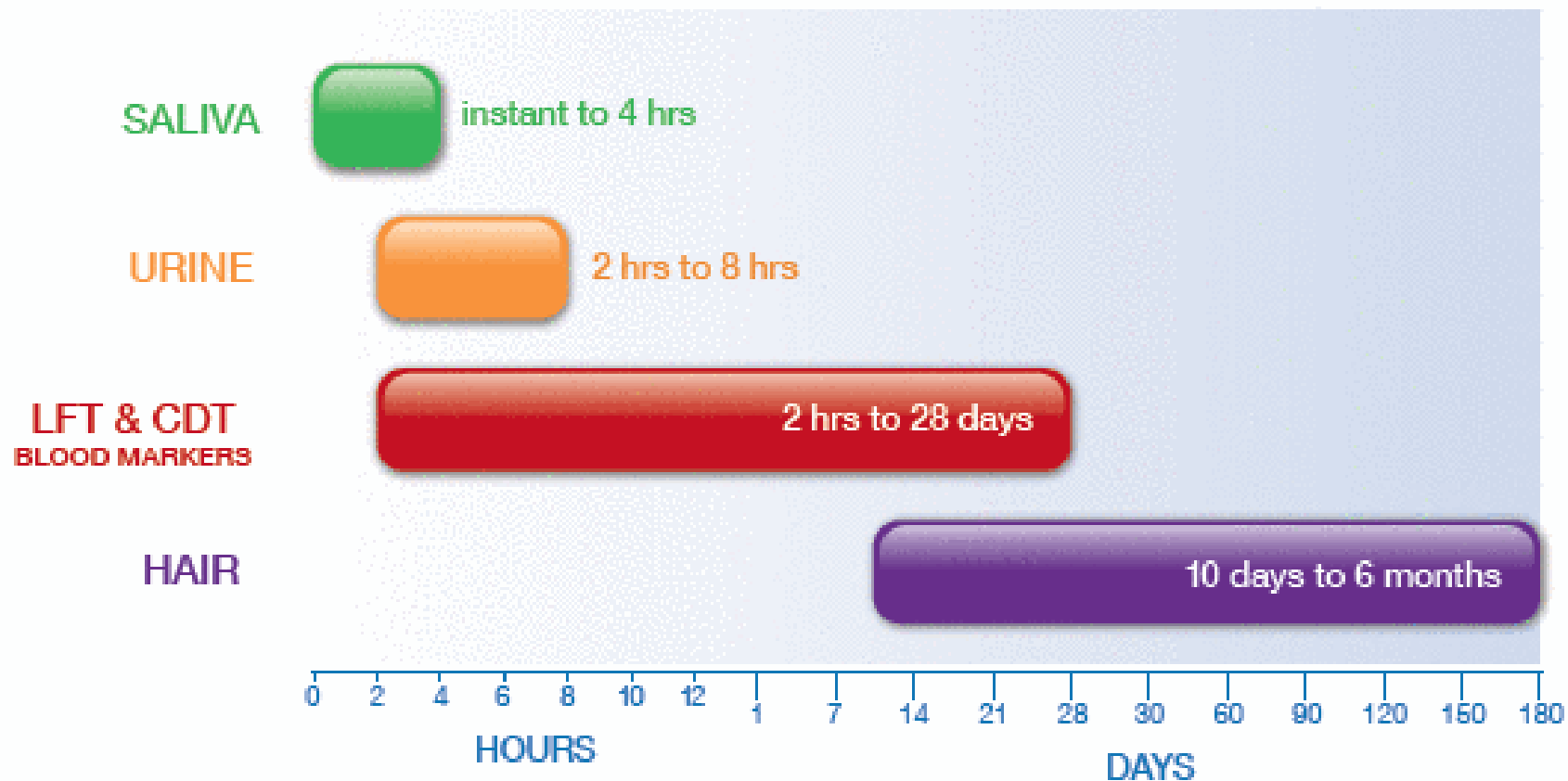
- ✓ Bireylerin saç segmentlerinin yapı farkı olduğu düşünülmektedir,

NEDEN SAÇ ANALIZİ?

- Diğer testler: Nefes testi, İdrar testi, Tükürük testi
- **Dezavantajları:** Kısa süreli sonuç vermeleri
- **Saç Analizlerinin Avantajı:**
6 aya kadar alkol alımıyla ilgili bilgi!



ALCOHOL TESTING EFFICACY TIMESCALE



SAÇ ANALİZLERİ VE DİĞER ANALİZLERİN KARŞILAŞTIRILMASI

air alcohol testing vs. Traditional methods

	Saç Alkol Testi	Diğer Testler
Belirlenebilirlik süresi	6 aya kadar	4 Haftadan az
Testin Devamlılığı	Bir Defaya Mahsus	Belli Periyotlarda Test Tekrarlanmalı
Sonuçlar	Yalnız Sonuçlar Elenir	Yalnız sonuç riski daha fazla
TestTekerarı	Mümkün	Kısa Belirlenebilirlik süresinden Dolayı Mümkün Değil





REFERANSLAR

- Krause, K; Foitzik, K (2006). "Biology of the Hair Follicle: The Basics". *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery* **25**: 2.
- *State of the art in hair analysis for detection of drug and alcohol abuse*. Fritz Pragst a, Marie A. Balikova b. Institute of Legal Medicine, University Hospital Charité, Hittorfstr. 18, D-14195 Berlin, Germany, 2005.
- K. S. Stenn and R. Paus (January 1, 2001). 'Controls of Hair Follicle Cycling'. *Physiological Reviews* **81** (1): 449–494.
- <http://haber.mynet.com/begum-adim-adim-olume-boyle-gitti-468538-yasam/>
- <http://www.konyahaber.com/haber/cami-tuvaletinde-alt%C4%B1n-vurus--82285.htm>
- <http://www.milliyet.com.tr/2004/01/11/guncel/agun.html>
- Analysis of drugs of abuse in hair: Evaluation of the immunochemical method
- VMA-T vs. LC-MS/MS or GC-MS, 2012, Baumtgartner, M.R., et al.
- Consensus of the Society of Hair Testing on hair testing for chronic excessive alcohol consumption 2011
(<http://www.soht.org/pdf/Revised%20Alcohol%20marker%20Consensus%202011.pdf>)
- <http://www.testcountry.org/alcohol-etg-testing-%E2%80%93-what-it-is-and-what-it-is-not.htm>
- <http://www.dna-worldwide.com/hair-drug-and-alcohol-testing/hair-alcohol-testing/>
- <http://www.medicalnewstoday.com/releases/127549.php>



REFERANSLAR

- Determination of EtG in Hair Sample. Adres Alt et all.
- *State of the art in hair analysis for detection of drug and alcohol abuse.2006.* Fritz Pragst , Marie A. Balikova .
- Comparison of ethyl glucuronide and fatty acid ethyl ester concentrations in hair of alcoholics, social drinkers and teetotallers. M. Yeglesa,*, A. Labarthea, V. Auwa"rterb, S. Hartwigb, H. Vaterb, R. Wenniga, F. Pragstb. 2004.
- Ethyl glucuronide in hair: is it a reliable marker of chronic high levels of alcohol consumption?. Lucia Politi, Luca Morini, Fabio Leone & Aldo Poletti.
- Forensic hair analysis: The case against the underemployment of scientific evidence , 1982, Edward J. Imwinkelried
- Hair analysis for drug sof abuse, 1992, Nakahara, Y., Takahashi, H., et al.
- Hair analysis for drugs of abuse, , 2011,Ping, X.

