

Geliş: 10.02.2026
Kabul: 26.04.2026

Kan ve İdrar Örneklerinde Amfetamin ve Türevlerinin Saptanmasında CEDIA ile LC-MS/MS Yöntemlerinin Karşılaştırılması

Comparative Evaluation of CEDIA and LC-MS/MS Methods for the Detection of Amphetamine and Its Derivatives in Blood and Urine Samples

Elif Kesmen¹, Esra Köse¹, Ahmet Nezih Kök²

¹ Adli Tıp Erzurum Grup Başkanlığı, Kimya İhtisas Dairesi, Erzurum, Türkiye
² Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Adli Tıp Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye

Öz

Amaç: Bu çalışma, Adli Toksikoloji alanında yaygın olarak kullanılan CEDIA immünoassay yöntemi ile LC-MS/MS yönteminin, kan ve idrar örneklerinde amfetamin ve türevlerinin tespitindeki performanslarını karşılaştırmayı amaçlamaktadır.

Yöntem: Çalışmaya, Erzurum Adli Tıp Grup Başkanlığı'na adli toksikolojik inceleme amacıyla gönderilen toplam 196 gerçek adli vakaya ait kan ve idrar örnekleri dâhil edilmiştir. Numuneler herhangi bir ön işleme tabi tutulmadan CEDIA yöntemi ile analiz edilmiş, ardından aynı numuneler katı faz ekstraksiyonu uygulanarak LC-MS/MS cihazında analiz edilmiştir. LC-MS/MS yöntemi referans yöntem olarak kabul edilmiştir. Elde edilen sonuçlar duyarlılık, özgüllük, Cohen's kappa uyum katsayısı ve McNemar testi kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Bulgular: CEDIA yönteminin kan numunelerinde duyarlılığı %3,1 ve özgüllüğü %100 olarak bulunmuştur. İdrar numunelerinde ise duyarlılık %77,4 ve özgüllük %98,1 olarak hesaplanmıştır. Kan örneklerinde CEDIA ile LC-MS/MS arasındaki uyum çok zayıf bulunurken ($\kappa=0,042$), idrar örneklerinde iyi düzeyde uyum saptanmıştır ($\kappa=0,762$). McNemar testi sonuçları, her iki biyolojik örnek türü için yöntemler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu göstermiştir ($p<0,001$).

Sonuç: Bu çalışma, CEDIA yönteminin özellikle kan örneklerinde düşük duyarlılığa sahip olduğunu ve güvenilir bir tarama testi olarak kullanılamayacağını göstermiştir. İdrar örneklerinde daha yüksek duyarlılık elde edilmesine rağmen, yöntemler arasında tam uyum sağlanamamıştır. LC-MS/MS yöntemi ise her iki biyolojik matrikste de yüksek duyarlılık ve özgüllük göstermiştir. Bu bulgular, özellikle kan örneklerinin analizinde LC-MS/MS yönteminin birincil analiz yöntemi olarak tercih edilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Adli toksikoloji, CEDIA, LC-MS/MS, Amfetamin, Kan, İdrar

Abstract

Objective: The aim of this study is to compare the performance of the widely used CEDIA immunoassay method and the LC-MS/MS method in the detection of amphetamine and its derivatives in blood and urine samples within the field of forensic toxicology.

Methods: A total of 196 blood and urine samples obtained from real forensic cases submitted to the Erzurum Council of Forensic Medicine were included in the study. Samples were first analyzed by the CEDIA method without any pretreatment, and subsequently analyzed by LC-MS/MS following solid-phase extraction. LC-MS/MS was accepted as the reference method. Diagnostic performance was evaluated using sensitivity, specificity, Cohen's kappa coefficient, and McNemar test.

Results: The sensitivity and specificity of the CEDIA method in blood samples were 3.1% and 100%, respectively. In urine samples, sensitivity was 77.4% and specificity was 98.1%. Agreement between CEDIA and LC-MS/MS was very poor in blood samples ($\kappa=0.042$), while good agreement was observed in urine samples ($\kappa=0.762$). McNemar test revealed statistically significant differences between the two methods for both biological matrices ($p<0.001$).

Conclusion: This study demonstrated that the CEDIA method has low sensitivity in blood samples and cannot be considered a reliable screening test in this matrix. Although higher sensitivity was observed in urine samples, complete agreement between the methods was not achieved. The LC-MS/MS method showed high sensitivity and specificity in both biological matrices. These findings suggest that LC-MS/MS should be preferred as the primary analytical method, particularly for the analysis of blood samples.

Keywords: Forensic toxicology, CEDIA, LC-MS/MS, Amphetamine, Blood, Urine

Nasıl Atıf Yapmalı: Kesmen E, Köse E, Kök AN. Kan ve İdrar Örneklerinde Amfetamin ve Türevlerinin Saptanmasında CEDIA ile LC-MS/MS Yöntemlerinin Karşılaştırılması. Adli Tıp Dergisi 2026;40(1):(38-44) <https://doi.org/10.61970/adlitip.1885416>.

Sorumlu Yazar: Elif Kesmen, Dr. Kimya Mühendisi, Adli Tıp Erzurum Grup Başkanlığı, Kimya İhtisas Dairesi, Erzurum, Türkiye
E-posta: elifkesmen@hotmail.com

GİRİŞ

Yasadışı uyuşturucu ve uyarıcı maddelerin kullanımı, dünya genelinde artış göstermeye devam etmekte olup, bu durum hem halk sağlığı hem de adli süreçler açısından önemli sorunlara yol açmaktadır. Özellikle amfetamin grubu maddeler ve türevleri, merkezi sinir sistemi üzerindeki belirgin uyarıcı etkileri ve yüksek bağımlılık potansiyelleri nedeniyle adli toksikoloji laboratuvarlarında en sık karşılaşılan psikoaktif maddeler arasında yer almaktadır (3,12). Bu maddelerin biyolojik örneklerde doğru ve güvenilir biçimde saptanması, adli değerlendirmelerin sağlıklı yürütülmesi ve toplum güvenliğinin sağlanması açısından kritik öneme sahiptir.

Uyuşturucu ve uyarıcı maddelerin analizinde kan ve idrar, en yaygın kullanılan biyolojik örneklerdir. Rutin laboratuvar uygulamalarında, kısa sürede yüksek sayıda numunenin değerlendirilmesi gereksinimi nedeniyle immünojenik temelli tarama testleri sıklıkla tercih edilmektedir (8). CEDIA (Cloned Enzyme Donor Immunoassay) yöntemi, otomasyona uygun yapısı, hızlı analiz süresi ve görece düşük maliyeti sayesinde birçok adli toksikoloji laboratuvarında tarama testi olarak kullanılmaktadır (5). Bununla birlikte, immünojenik yöntemlerin analitik özgüllüklerinin sınırlı olması, yapısal olarak benzer bileşiklerle çapraz reaksiyon gösterebilmeleri ve düşük düzeylerdeki maddeleri saptamada yetersiz kalabilmeleri önemli kısıtlılıklar arasında yer almaktadır (2,9).

Literatürde, immünojenik tarama testlerinin idrar örneklerinde genellikle daha yüksek duyarlılık gösterdiği, buna karşın kan örneklerinde yanlış negatif sonuçların daha sık görülebildiği bildirilmektedir (4). Bu durum, özellikle kan matriksinin daha karmaşık yapısı ve düşük analit konsantrasyonları ile ilişkilendirilmektedir. Bu nedenle, immünojenik tarama testlerinin tek başına kesin sonuç vermek için yeterli olmadığı ve elde edilen bulguların

doğrulayıcı analitik yöntemlerle desteklenmesi gerektiği kabul edilmektedir.

İmmünojenik tarama testleri ile elde edilen pozitif sonuçların doğrulanmasında geleneksel olarak gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC/MS) gibi yöntemler kullanılmaktadır. Ancak GC/MS analizleri çoğu zaman zaman alıcı örnek hazırlama basamakları ve türevlendirme işlemleri gerektirmektedir. Günümüzde ise sıvı kromatografisi-tandem kütle spektrometrisi (LC-MS/MS) yöntemi, yüksek duyarlılık ve özgüllüğü sayesinde adli toksikolojide referans yöntemler arasında yer almakta ve giderek daha yaygın şekilde kullanılmaktadır (7,10). LC-MS/MS, aynı anda birden fazla maddenin ve metabolitinin düşük konsantrasyonlarda güvenilir biçimde analiz edilmesine olanak sağlamaktadır (14).

Geleneksel analitik yaklaşımlarda, immünojenik tarama testlerini takiben pozitif bulunan örneklerin kromatografik yöntemlerle doğrulanması önerilmektedir. Ancak LC-MS/MS gibi yüksek performanslı analitik sistemlerin rutin laboratuvarlarda daha erişilebilir hale gelmesiyle birlikte, immünojenik tarama testlerinin gerekliliği ve etkinliği yeniden tartışılmaya başlanmıştır (13). Özellikle kan örneklerinde CEDIA gibi immünojenik yöntemlerin LC-MS/MS ile ne ölçüde uyumlu sonuçlar verdiği ve tarama testi olarak yeterli olup olmadığı halen netlik kazanmamıştır.

Literatürde immünoassay temelli tarama yöntemleri ile ileri kromatografik tekniklerin karşılaştırıldığı çalışmalarda, biyolojik matrikse bağlı olarak duyarlılık ve özgüllükte değişkenlikler bildirilmektedir. LC-MS/MS tabanlı yöntemlerin daha yüksek analitik performans sunduğu, immünoassay yöntemlerin ise özellikle düşük konsantrasyonlarda yetersiz kalabildiği gösterilmiştir (1,6,11).

Bu çalışmada, gerçek adli vakalardan elde edilen kan

ve idrar örneklerinde amfetamin ve türevlerinin tespitinde kullanılan CEDIA immünolojik yöntemi ile LC-MS/MS yönteminin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca CEDIA yönteminin tarama testi olarak etkinliği ve LC-MS/MS yönteminin adli toksikoloji laboratuvarlarında tek başına kullanımının yeterliliği değerlendirilmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Tasarımı ve Örneklem

Çalışmaya dahil edilen örnekler, adli inceleme amacıyla Erzurum Adli Tıp Grup Başkanlığı'na gönderilen gerçek vakalardan retrospektif olarak seçilmiştir. Çalışma kapsamında LC-MS/MS analizlerinde pozitif bulunan örnekler değerlendirmeye alınmıştır. Bu durum yöntemler arası karşılaştırmanın yapılabilmesi amacıyla tercih edilmiştir.

Kimyasallar ve Çözeltiler

Çalışmada LC-MS saflıkta; formik asit (Fluka, Almanya), metanol (Honeywell, Almanya), su (J.T. Baker, Polonya) ayrıca %99,5 saflıkta amonyum asetat ve etil asetat (ISOLAB) kullanılmıştır.

İmmünolojik Analiz (CEDIA Yöntemi)

CEDIA analizleri, Thermo Scientific Indiko Plus otomatik immünoassay analizörü kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Amfetamin ve türevleri için cut-off değeri 500 ng/mL olarak uygulanmıştır. Kalibrasyon işlemlerinde Thermo Scientific marka kalibratörler kullanılmış olup kalibrasyon aralığı 500–5000 ng/mL olarak belirlenmiştir.

Katı Faz Ekstraksiyonu (SPE)

Her bir kan ve idrar örneğinden 1 mL alınmış, üzerine 5 mL saf su eklenerek vortekslenmiş ve 4400 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası elde edilen üst faz, katı faz ekstraksiyonu (SPE) işlemine tabi tutulmuştur.

SPE kartuşları sırasıyla 2 mL metanol ve 2 mL saf su ile şartlandırılmıştır. Numuneler kartuşlardan geçirilmiş, ardından 3 mL %5'lik metanol ile yıkama işlemi uygulanmıştır. Kartuşlar 4400 rpm'de 20 dakika santrifüj edilerek kurutulmuştur. Kartuş olarak Oasis HLB kartuşları kullanılmıştır. Elde edilen elüatlar tamamen uçurulduktan sonra, kalıntılar mobil faz ile uyumlu çözücü içerisinde çözdürülerek viallere alınmış ve LC-MS/MS cihazında analiz edilmiştir.

LC-MS/MS Analizi

LC-MS/MS analizleri Agilent Technologies 6460 Triple Quadrupole LC-MS/MS sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kromatografik ayırım Agilent Poroshell 120 EC-C18 (4.6 × 150 mm, 2.7 µm) kolonda sağlanmıştır.

Mobil faz; metanol, su, amonyum asetat ve formik asit içeren sistemden oluşmakta olup gradyan elüsyon uygulanmıştır. Analizler elektrospray iyonizasyon (ESI) kaynağı ile pozitif modda ve MRM modunda gerçekleştirilmiştir.

Tablo 1. LC-MS/MS Kromatografik Yöntem Şartları

Analiz Parametresi	Şartlar
Kolon	C18 ters faz
Kolon sıcaklığı	40 °C
Enjeksiyon hacmi	10 µL
Analiz süresi	18 dk
Akış hızı	0,6 mL/dk
Source sıcaklığı	300 °C
Azot gazı sıcaklığı	300 °C
Azot gazı akış hızı	10 L/dk

Amfetamin için Alıkonma zamanı (RT) 4,6 dk, metamfetamin için RT: 4,59 dk, MDA için RT: 4,55 dk ve MDMA için RT: 4,53 dk'dır.

Amfetamin için 136→91 (quantifier) ve 136→119 (qualifier),

Metamfetamin için 150→119 ve 150→91,

MDA için 180→163 ve 180→105,

MDMA için 194→163 ve 194→135 geçişleri kullanılmıştır.

LC-MS/MS yöntemi için kalibrasyon standartları 0,5–500 ng/mL aralığında hazırlanmış; kantitatif değerlendirme her analit için belirlenen LOQ değerlerinin üzerindeki konsantrasyonlar için gerçekleştirilmiştir. Kalibrasyon aralığını aşan örnekler uygun şekilde seyreltilerek yeniden analiz edilmiştir.

LOD ve LOQ değerleri amfetamin, MDA ve MDMA için sırasıyla; 1 ng/mL ve 3 ng/mL ve metamfetamin için sırasıyla 0,8 ng/mL ve 2,4 ng/mL olarak belirlenmiştir. Yöntemin geri kazanım değerleri analitlere bağlı olarak %85–110 aralığında bulunmuştur.

İstatistiksel Analiz

CEDIA ve LC-MS/MS yöntemlerinden elde edilen sonuçlar karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. LC-MS/MS yöntemi referans alınarak CEDIA yönteminin duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer ve negatif prediktif değerleri hesaplanmıştır. Yöntemler arasındaki uyum Cohen's kappa katsayısı ile değerlendirilmiş, yöntemler arasındaki farkın istatistiksel anlamlılığı McNemar testi kullanılarak analiz edilmiştir. İstatistiksel analizlerde $p < 0,05$ değeri anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Bu çalışmada, toplam 196 gerçek adli vakaya ait kan ve idrar örnekleri değerlendirilmiştir. Tüm numuneler hem CEDIA immünolojik yöntemi hem de LC-MS/MS yöntemi ile analiz edilmiştir. LC-MS/MS yöntemi referans yöntem olarak kabul edilmiştir.

Kan örneklerinde CEDIA yöntemi yalnızca yüksek konsantrasyonlarda pozitiflik gösterirken, 600 ng/mL altındaki tüm örneklerde negatif sonuç vermiştir. İdrar örneklerinde ise yüksek duyarlılık gözlenmiştir.

Tablo 2. CEDIA sonuçları ile LC-MS/MS kantitatif değerlerin biyolojik matrikse göre karşılaştırılması (100 numunede)

Matriks	CEDIA sonucu	n	LC-MS/MS konsantrasyon aralığı (ng/mL)	Medyan (ng/mL)
Kan	Negatif	95	1.6–600	—
Kan	Pozitif	2	624–650	637
İdrar	Negatif	2	< cut-off (500)	—
İdrar	Pozitif	98	≥500	—

Kan Örneklerine Ait Bulgular

LC-MS/MS analizleri sonucunda, tüm kan örneklerinde amfetamin ve/veya türevleri pozitif olarak tespit edilmiştir (%100). Buna karşılık, CEDIA yöntemi ile yapılan analizlerde kan örneklerinin yalnızca %3,1'inde pozitif sonuç elde edilmiştir. Geri kalan %96,9 oranındaki kan örneği CEDIA yöntemi ile negatif olarak raporlanmıştır. LC-MS/MS yöntemi referans alındığında, CEDIA yönteminin kan örnekleri için duyarlılığı %3,1, özgüllüğü %100 olarak hesaplanmıştır. Yöntemler arasındaki uyum değerlendirildiğinde, Cohen's kappa katsayısı $\kappa=0,042$ olarak bulunmuş ve bu değer çok zayıf uyum düzeyini göstermiştir. McNemar testi sonuçları, CEDIA ve LC-MS/MS yöntemleri arasında kan örnekleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu ortaya koymuştur ($p < 0,001$).

İdrar Örneklerine Ait Bulgular

LC-MS/MS analizlerinde idrar örneklerinin tamamında (%100) amfetamin ve/veya türevleri pozitif olarak saptanmıştır. CEDIA yöntemi ile yapılan analizlerde ise idrar örneklerinin %77,4'ünde pozitif, %22,6'sında negatif sonuç elde edilmiştir.

CEDIA yönteminin idrar örnekleri için duyarlılığı %77,4, özgüllüğü %98,1 olarak hesaplanmıştır. Yöntemler arasındaki uyum değerlendirmesinde Cohen's kappa katsayısı $\kappa=0,762$ olarak bulunmuş ve bu değer iyi düzeyde uyum olarak yorumlanmıştır. Ancak McNemar testi sonuçları, idrar örnekleri için de iki yöntem arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunduğunu göstermiştir ($p < 0,001$).

CEDIA sonuçları ile LC-MS/MS kantitatif verilerin karşılaştırılması Tablo 2’de sunulmuştur. Kan örneklerinde CEDIA yönteminin yalnızca yüksek konsantrasyonlarda pozitif sonuç verdiği, 600 ng/mL altındaki tüm örnekleri negatif olarak değerlendirdiği görülmüştür. Buna karşılık, idrar örneklerinde yüksek pozitiflik oranı saptanmış olmakla birlikte, düşük konsantrasyonlarda sınırlı sayıda yanlış negatif sonuç gözlenmiştir.

Bu bulgular, CEDIA yönteminin performansının analit konsantrasyonuna ve biyolojik matrikse bağlı olarak değiştiğini göstermektedir. Elde edilen bulgular, CEDIA yönteminin özellikle kan örneklerinde amfetamin ve türevlerinin tespitinde yetersiz kaldığını, idrar örneklerinde ise daha yüksek performans göstermesine rağmen LC-MS/MS yöntemi ile tam uyum sağlamadığını ortaya koymuştur. LC-MS/MS yöntemi her iki biyolojik örnekte de yüksek duyarlılık ve güvenilirlik göstermiştir.

Çalışmada CEDIA yöntemi nitel sonuçlar verdiği için Bland–Altman veya Passing–Bablok gibi kantitatif karşılaştırma yöntemleri uygulanamamıştır.

TARTIŞMA

Bu çalışmada, gerçek adli vakalardan elde edilen kan ve idrar örneklerinde amfetamin ve türevlerinin tespitinde kullanılan CEDIA immünolojik yöntemi ile LC-MS/MS yönteminin performansları karşılaştırılmıştır. Bulgular, CEDIA yönteminin özellikle kan örneklerinde amfetamin ve türevlerinin tespitinde ciddi duyarlılık sorunları olduğunu, idrar örneklerinde ise daha iyi performans göstermesine rağmen LC-MS/MS yöntemi ile tam uyum sağlamadığını ortaya koymuştur.

İmmünolojik tarama testleri, adli toksikoloji laboratuvarlarında hızlı sonuç vermeleri ve yüksek numune kapasitesine uygun olmaları nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemlerin analitik duyarlılıklarının sınırlı olması ve biyolojik matriks

farklılıklarından etkilenmeleri önemli bir dezavantaj olarak bilinmektedir (2,9). Çalışmamızda CEDIA yönteminin kan örneklerinde amfetamin ve/veya türevleri için yalnızca %3,1 oranında pozitiflik göstermesi, immünolojik yöntemlerin kan matriksinde yetersiz kalabileceğini açık biçimde ortaya koymaktadır.

Literatürde, immünolojik yöntemlerin idrar örneklerinde kan örneklerine kıyasla daha yüksek duyarlılık gösterdiği bildirilmiştir (4). Çalışmamızda idrar örneklerinde CEDIA yönteminin duyarlılığının %77,4 olarak bulunması bu bulgularla uyumludur. Bununla birlikte, LC-MS/MS yöntemi ile yapılan analizlerde hem kan hem de idrar örneklerinin tamamında amfetamin ve/veya türevleri tespit edilmiş olması, CEDIA yönteminin özellikle düşük konsantrasyonlardaki maddeleri saptamada yetersiz kaldığını düşündürmektedir.

Cohen’s kappa analizi sonuçları, kan örnekleri için yöntemler arasında çok zayıf bir uyum bulunduğunu, idrar örneklerinde ise uyumun iyi düzeyde olduğunu göstermiştir. Ancak McNemar testi sonuçlarının her iki biyolojik örnek türü için de istatistiksel olarak anlamlı farklılık ortaya koyması, CEDIA ve LC-MS/MS yöntemlerinin birbirinin yerine kullanılmasının uygun olmadığını göstermektedir. Bu durum, immünolojik yöntemlerin tek başına güvenilir bir tarama testi olarak kabul edilmemesi gerektiğini desteklemektedir.

Bu çalışmanın önemli çıktılarından biri, CEDIA gibi immünolojik yöntemlerin GC/MS gibi geleneksel kromatografik yöntemlerle birlikte kullanıldığı adli toksikoloji uygulamalarında ortaya çıkabilecek kritik bir hataya dikkat çekmesidir. Rutin uygulamalarda, biyolojik örnekler öncelikle immünolojik tarama testleri ile analiz edilmekte ve yalnızca pozitif bulunan örnekler doğrulama amacıyla GC/MS analizine yönlendirilmektedir. Ancak çalışmamızda da gösterildiği üzere, özellikle düşük

konsantrasyonlardaki amfetamin ve/veya türevleri içeren kan örneklerinde CEDIA yönteminin duyarlılığının yetersiz kalması, yanlış negatif sonuçlara yol açabilmektedir. Bu durum, gerçekte pozitif olan bazı örneklerin tarama aşamasında elenmesine ve doğrulayıcı analizlere hiç yönlendirilmemesine neden olmaktadır. Sonuç olarak, GC/MS gibi yüksek özgüllüğe sahip yöntemler kullanılmasına rağmen, tarama aşamasındaki bu sınırlılık nedeniyle bazı pozitif vakaların adli kayıtlara yanlış biçimde negatif olarak yansımaları söz konusu olabilmektedir. Bu bulgular, CEDIA yönteminin GC/MS ile birlikte kullanıldığı algoritmalarda doğrulama amacıyla güvenilir bir basamak olarak kabul edilemeyeceğini ve özellikle kan örneklerinde tek başına tarama testi olarak kullanılmasının adli açıdan ciddi riskler taşıdığını göstermektedir.

LC-MS/MS yöntemi, yüksek analitik duyarlılığı ve özgüllüğü sayesinde adli toksikolojide referans yöntemler arasında yer almaktadır (7,10). Çalışmamızda LC-MS/MS yönteminin hem kan hem de idrar örneklerinde %100 pozitiflik göstermesi, bu yöntemin yalnızca doğrulama amacıyla değil, aynı zamanda tarama amacıyla da güvenle kullanılabilmesini ortaya koymaktadır. Özellikle LC-MS/MS sistemlerinin rutin laboratuvarlarda daha erişilebilir hale gelmesi, immünolojik tarama testlerinin gerekliliğini sorgulanır hale getirmektedir.

Bu çalışmanın bazı sınırlılıkları bulunmaktadır. Çalışma yalnızca amfetamin ve/veya türevleri üzerine odaklanmış olup, diğer uyuşturucu-uyarıcı maddeler için yöntemlerin performansı değerlendirilmemiştir. Ayrıca numunelerdeki madde konsantrasyonları ayrı ayrı analiz edilmemiştir. Buna rağmen çalışmanın güçlü yönü, gerçek adli vakalardan elde edilen geniş bir örneklem grubunun kullanılmasıdır.

Bu çalışmada elde edilen bulgular, CEDIA yönteminin performansının biyolojik matriks ve analit konsantrasyonuna güçlü şekilde bağlı olduğunu göstermektedir. Özellikle kan

örneklerinde düşük konsantrasyonlarda tamamen başarısız olan CEDIA yöntemi, yalnızca yüksek konsantrasyonlarda pozitif sonuç verebilmiştir. Bu durum, immünoassay yöntemlerin cut-off değerine bağımlı yapısını açıkça ortaya koymaktadır.

İdrar örneklerinde gözlenen yüksek duyarlılık ise literatür ile uyumludur ve matriks etkisinin önemini desteklemektedir.

Bu çalışmanın özgün katkısı, immünoassay yöntemlerin bilinen sınırlılıklarını yalnızca teorik veya deneysel düzeyde değil, gerçek adli vakalardan elde edilen örnekler üzerinden, biyolojik matriks ve konsantrasyon etkisini birlikte değerlendirerek ortaya koymasındadır. Özellikle kan örneklerinde düşük konsantrasyonlarda gözlenen yüksek yanlış negatif oranı, rutin adli toksikoloji uygulamalarında önemli tanısal ve adli sonuçlar doğurabilecek bir bulgu olarak dikkat çekmektedir. Bu yönüyle çalışma, immünoassay yöntemlerin performansının hangi koşullarda yetersiz kaldığını açık biçimde ortaya koyarak literatüre özgün katkı sunmaktadır ve mevcut tarama algoritmalarının yeniden değerlendirilmesi gerektiğini güçlü şekilde ortaya koymaktadır.

SONUÇ

Bu çalışmada, gerçek adli vakalardan elde edilen kan ve idrar örneklerinde amfetamin ve türevlerinin tespitinde kullanılan CEDIA immünolojik yöntemi ile LC-MS/MS yönteminin performansları karşılaştırılmıştır. Elde edilen bulgular, CEDIA yönteminin özellikle kan örneklerinde düşük duyarlılığa sahip olduğunu ve güvenilir bir tarama testi olarak kullanılamayacağını göstermiştir. İdrar örneklerinde CEDIA yöntemi daha yüksek pozitiflik oranı göstermesine rağmen, LC-MS/MS yöntemi ile tam uyum sağlamamıştır.

LC-MS/MS yöntemi, hem kan hem de idrar örneklerinde

yüksek duyarlılık ve özgülük göstermiş ve tüm numunelerde amfetamin ve türevleri tespit edilmiştir. Bu durum, LC-MS/MS yönteminin adli toksikoloji laboratuvarlarında yalnızca doğrulama amacıyla değil, aynı zamanda tarama yöntemi olarak da güvenle kullanılabileceğini ortaya koymaktadır.

Sonuç olarak, LC-MS/MS sistemlerinin bulunduğu laboratuvarlarda, yüksek maliyetli ve sınırlı duyarlılığa sahip immünolojik tarama testlerine olan gereksinimin yeniden değerlendirilmesi gerektiği düşünülmektedir. Özellikle kan örneklerinin analizinde, yanlış negatif sonuçların önüne geçebilmek için LC-MS/MS yönteminin birincil analiz yöntemi olarak kullanılması önerilmektedir.

Bildirimler

Bu çalışma daha önce herhangi bir yüksek lisans ya da doktora tezinde kullanılmamıştır. Bu çalışma için Adli Tıp Kurumu Başkanlığı'ndan kurumsal izin alınmış olup, çalışma Helsinki Bildirgesi ilkelerine uygun olarak yürütülmüştür.

Çıkar çatışması

Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Finansal destek

Bu çalışma herhangi bir kurum ya da kuruluş tarafından maddi olarak desteklenmemiştir.

KAYNAKLAR

1. Avcioglu G, Yilmaz G, Yalcin Sahiner S, Kozaci LD, Bal C, Yilmaz FM. Comparison of the immunoassay method with the commercial and in-house LC-MS/MS methods for substance abuse in urine. *Turk J Biochem.* 2024;49(1):24-37. <https://doi.org/10.1515/tjb-2022-0286>
2. Brahm NC, Yeager LL, Fox MD, Farmer KC, Palmer TA. Commonly prescribed medications and potential false-positive urine drug screens. *Am J Health Syst Pharm.* 2010;67(16):1344-1350. <https://doi.org/10.2146/ajhp090477>
3. Darke S, Kaye S, McKetin R, Duffou J. Major physical and psychological harms of methamphetamine use. *Drug Alcohol Rev.* 2008;27(3):253-262. <https://doi.org/10.1080/09595230801923702>
4. Drummer OH. Drug testing in blood: sensitivity, specificity and interpretation. *Ther Drug Monit.* 2004;26(2):194-198. <https://doi.org/10.1007/s0007691-200404000-00011>

[org/10.1007/s0007691-200404000-00011](https://doi.org/10.1007/s0007691-200404000-00011)

5. Kalasinsky KS. Immunoassays in forensic toxicology. *Forensic Sci Rev.* 2003;15(2):99-118.
6. Kahl KW, Seither JZ, Reidy LJ. LC-MS-MS vs ELISA: validation of a comprehensive urine toxicology screen by LC-MS-MS and a comparison of 100 forensic specimens. *J Anal Toxicol.* 2019;43(9):734-745. <https://doi.org/10.1093/jat/bkz066>
7. Maurer HH. Current role of liquid chromatography–mass spectrometry in clinical and forensic toxicology. *Anal Bioanal Chem.* 2007;388(7):1315-1325. <https://doi.org/10.1007/s00216-007-1367-6>
8. Moeller KE, Lee KC, Kissack JC. Urine drug screening: practical guide to methods and interpretation. *Mayo Clin Proc.* 2008;83(1):66-76. <https://doi.org/10.4065/83.1.66>
9. Musshoff F, Madea B. Analytical pitfalls in drug testing and interpretation of results. *Forensic Sci Int.* 2006;156(2-3):103-112. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2005.10.017>
10. Peters FT, Drummer OH, Musshoff F. Validation of new methods. *Forensic Sci Int.* 2007;165(2-3):216-224. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2006.05.021>
11. Sundström M, Pelander A, Ojanperä I. Comparison between drug screening by immunoassay and ultra-high performance liquid chromatography/high-resolution time-of-flight mass spectrometry in post-mortem urine. *Drug Test Anal.* 2015;7(5):420-427. <https://doi.org/10.1002/dta.1682>
12. United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC). World Drug Report 2023. Vienna: United Nations; 2023. Available from: <https://www.unodc.org/unodc/en/data-and-analysis/world-drug-report-2023.html>
13. Verstraete AG. Oral fluid testing: promises and pitfalls. *Ther Drug Monit.* 2004;26(2):195-198. <https://doi.org/10.1007/s0007691-200404000-00012>
14. Wille SMR, Peters FT, Di Fazio V, Samyn N. Practical aspects concerning validation and quality control for forensic and clinical bioanalytical quantitative methods. *Accred Qual Assur.* 2011;16:279-292. <https://doi.org/10.1007/s00769-011-0775-0>