



Užívání drog screening a kvantitativní konfirmasiace v rámci jednoho testu

Vladimír Krolikowski

+420 731 426 032

krolikowski@ibitech.cz

Dvůr Králové nad Labem, 30.5.2023



Obsah prezentace

- 1 Představení firmy Chromsystems
- 2 Kity pro HPLC
- 3 Kity pro LC-MS/MS
- 4 Kit pro screening drog v moči



Představení firmy



Mnichov – založení 1990
Dnes více než 200 zaměstnanců
Distribuce do celého světa





Individuální podpora

Tým vědecké podpory Chromsystems realizuje:

- ✓ Instalaci metody na různých LC-MS/MS systémech
- ✓ Školení u zákazníka
- ✓ Servis a podpora u zákazníka
- ✓ Řešení problémů – „hot line“



Kity pro HPLC

Biogenní aminy

Catecholamines in urine
Catecholamines in plasma
Metanephrines in urine
VMA, HVA, 5-HIAA in urine
Serotonin in urine
Serotonin in serum/plasma/whole blood

Monitorování oxidativního stresu

Malondialdehyd - plazma/sérum
Vitamin C - plazma/sérum
Glutathion - plná krev
Koenzym Q10 - plazma/sérum/plná krev
β karoten - plazma/sérum

Vitamínový profil

Vitamin B1 - plná krev
Vitamin B2 - plná krev
Vitamin B6 - sérum/plazma/plná krev
Vitamins A a E - plazma/plná krev

Diagnostika osteoporózy

Crosslinks in urine
25-OH-Vitamin D3/D2 in serum/plasma

Variety hemoglobinu

Hemoglobin Variants
HbA1c in whole blood
β-Thalassemia Testing Short Program for HbA2 & HbF

Rizikový faktor arteriosklerózy

Homocysteine in plasma

Detekce porfyrinů

Porphyrins in urine

TDM

Anti-HIV-Drugs in Serum/Plasma
Itraconazole/Hydroxy-Itraconazole in serum/plasma
Amiodarone & Desethylamiodarone in serum/plasma
Benzodiazepines and Tricyclic Antidepressants
Extended Benzodiazepines
Clozapine/Norclozapine in Serum/Plasma
Antiepileptic drugs in serum/plasma
Zonisamide in serum/plasma
Levetiracetam (Keppra®) in serum/plasma
Mycophenolic acid in plasma/serum
Olanzapine, Desmethylolanzapine in serum/plasma
Antibiotika

Pracovní lékařství

Hippuric, methylhippuric, mandelic, phenylglyoxylic acids
o-Cresol, p-Cresol and Phenol in Urine
t,t-Muconic Acid in Urine
1-Hydroxypiperene in Urine

Biomarker pro závislost na alkoholu

CDT in serum - for binary and ternary gradient systems



Kity pro LC-MS/MS



Metabolické poruchy a Screening novorozenců

MassChrom® Amino Acids Analysis in Plasma/Serum/Urine
MassChrom® Amino Acids and Acylcarnitines from Dried Blood Spots

Stanovení vitamínu D

MassChrom® 25-OH-Vitamin D3/D2 in Serum/Plasma - LC-MS/MS
Upgrade for 3-epi-25-OH-Vitamin D3/D2 - LC-MS/MS

Vitamínový profil

MassChrom® Methylmalonic Acid in Serum/Plasma and Urine – LC-MS/MS
MassChrom® Vitamins B1 and B6 in Whole Blood

Biogenní aminy

V moči:
Catecholamines, free Metanephrines, Serotonin
Total Metanephrines,
VMA, HVA, 5-HIAA

V plasmě:
MassChrom® Free Metanephrines in Plasma - LC-MS/MS

Steroidy

MassChrom® Steroids in Serum/Plasma – LC-MS/MS
MassChrom® Cortisol, Cortisone in Saliva

TDM

MassTox® Immunosuppressants in Whole Blood – LC-MS/MS

MassTox® TDM Series A – 200 parameters
1. MassTox® Basic Kit A
2. MassTox® MasterColumn® A
3. MassTox® TDM Parameter Sets



Návykové látky

MassTox® Drugs of Abuse testing in Urine

Nadužívání alkoholu

MassChrom® Ethyl Glucuronide (EtG) and Ethyl Sulphate (EtS) in Urine



Návykové látky - drogy

Drogy jsou schopné vyvolat závislost a způsobit selhání tělesných orgánů nebo je trvale poškodit.

Návykové látky můžeme dělit podle několika hledisek:

- 1. Podle původu: přírodní x syntetické**
- 2. Podle legislativy: legální x nelegální**
- 3. Podle účinků na psychiku:**
 - a) tlumivé**
 - b) stimulační**
 - c) vyvolávající euforii**
 - d) halucinogenní**



Proč testujeme?

1. **Identifikace látek u předávkovaných pacientů**
2. **Screening drog po spáchání trestných činů**
3. **Sledování dodržování léčebných programů**
4. **Otázky v pracovním lékařství**
5. **Testování způsobilosti k řízení motorových vozidel**



Identifikační vs. cílený screening



Identifikační screening

- Požadavek testování na přítomnost případných drog (pitva).
- Potřebuje rozsáhlé knihovny sloučenin >5000 a více sloučenin
- Běžné techniky: TOF/MS nebo GC-MS

Cílený screening

- Klinický drogový screening nejčastěji užívaných drog
- Testování vybraného spektra drog je dostačující
- Běžné techniky: imunoanalýza následovaná GC-MS
- Nyní: LC-MS/MS pokrývající cílený screening a confirmaci



108 analytů

Amfetaminy	Benzodiazepiny	Booster	Opiáty/Opioidy	Ostatní
Amphetamine	Alprazolam	Gabapentin	Acetylcodeine	Ketamine
BDB	7-Aminoclonazepam	Pregabalin	Buprenorphine	LSD
Butylone	7-Aminoflunitrazepam	Promethazine	Codeine	Mescaline
2C-B	7-Aminonitrazepam	Quetiapine	Dihydrocodeine	Norketamine
2C-I	Bromazepam		EDDP	2-Oxo-3-hydroxy-LSD
Cathinone	Brotizolam		Fentanyl	PCP
MBDB	Chlordiazepoxide	Kanabinoidy	Hydrocodone	
MDA	Clobazam	THC-COOH	Hydromorphone	
MDEA	Clonazepam		Meconin	
MDMA	Demoxepam	Kokain	Meperidine	
MDPV	Desalkylflurazepam	THC-Benzoylecgonine	Methadone	
Mephedrone	Desmethylflunitrazepam	Cocaethylene	6-Monoacetylmorphine	
Methamphetamine	Diazepam	Cocaine	Morphine	
Methaqualone	Estazolam	Norcocaine	Naloxone	
Methylone	Flunitrazepam		Naltrexone	
Methylphenidate	Flurazepam	Z-Drugs	Norbuprenorphine	
PMA	Lorazepam	Zaleplon	Norcodeine	
Ritalinic Acid	Lormetazepam	Zolpidem	Norfentanyl	
	Medazepam	Zopiclone	Normeperidine	
Barbituráty	Midazolam		Nortapentadol	
Allobarbital	Nitrazepam		Nortilidine	
Amobarbital	Norclobazam		O-Desmethyltramadol	
Barbital	Nordiazepam		Oxycodone	
Butalbital	α -OH-Alprazolam		Oxymorphone	
Hexobarbital	3-OH-Bromazepam		Papaverine	
Pentobarbital	α -OH-Midazolam		Propoxyphene	
Phenobarbital	α -OH-Triazolam		Sufentanil	
Secbutabarbital	Oxazepam		Tapentadol	
Secobarbital	Prazepam		Thebaine	
Thiopental	Temazepam		Tilidine	
	Triazolam		Tramadol	



Příklad chromatogramu



HPLC Parameter

Injection volume 2-20 μ l

Column temp. 30°C

Gradient binary

MS Parameter

Ionisation ESI positive and negative

MS/MS Mode MRM

Time [min]

2.0

3.0

4.0

5.0

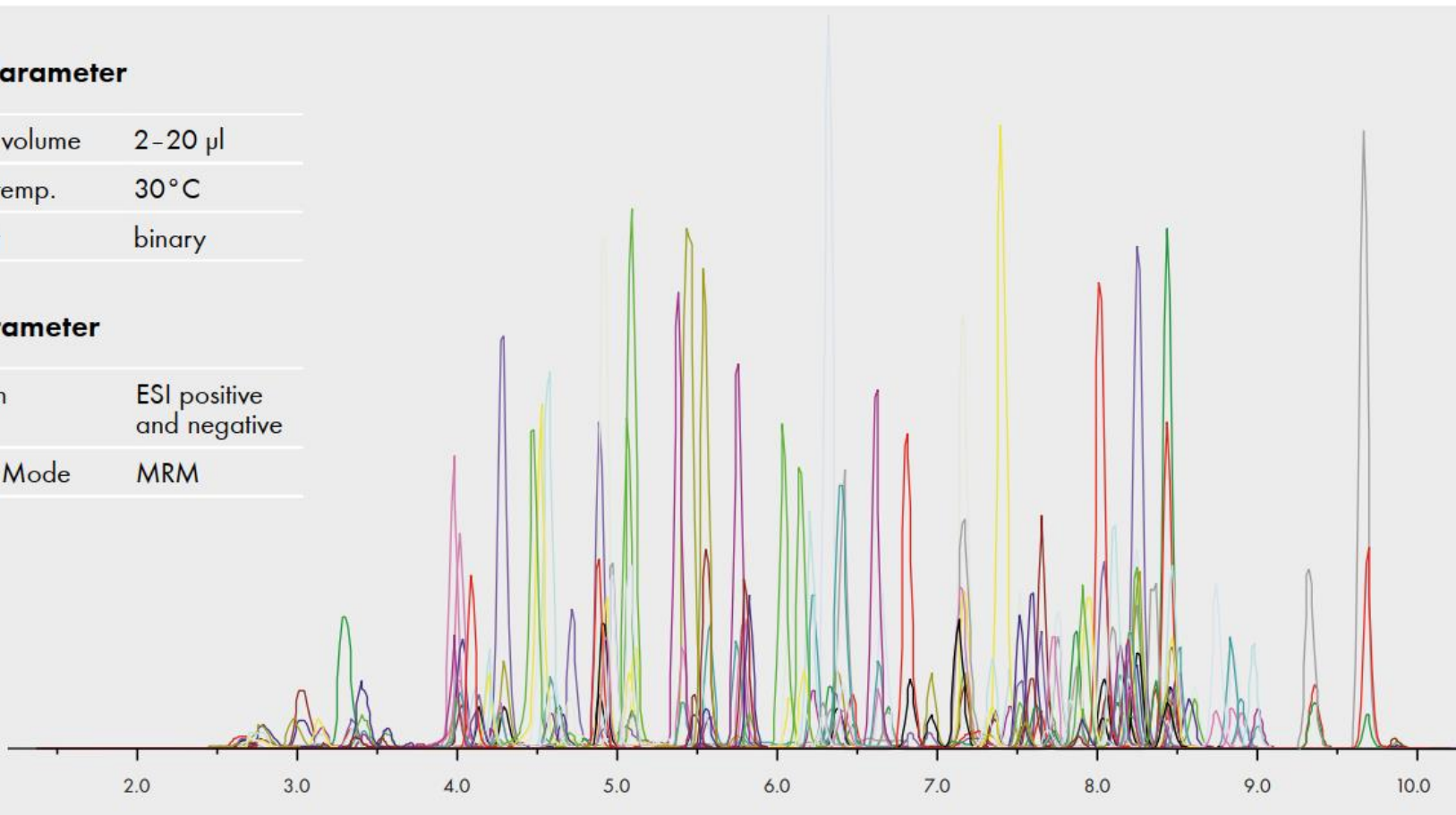
6.0

7.0

8.0

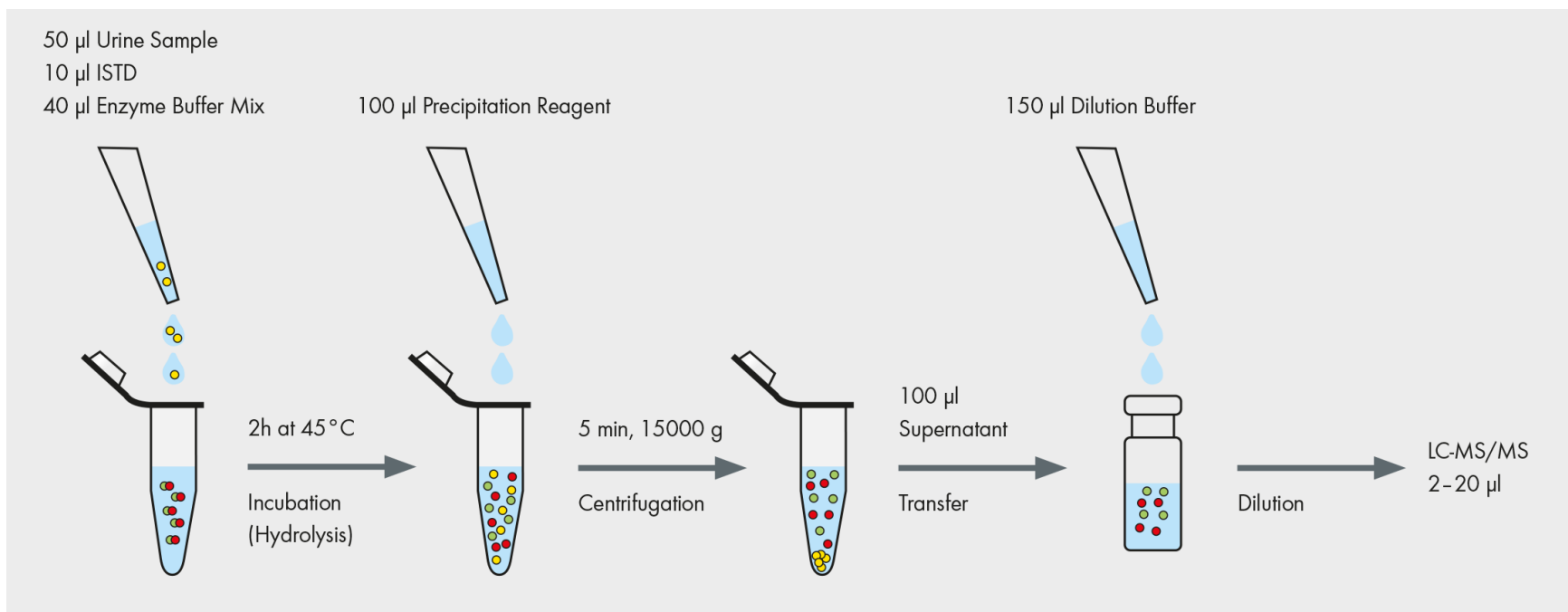
9.0

10.0





Snadná příprava vzorků

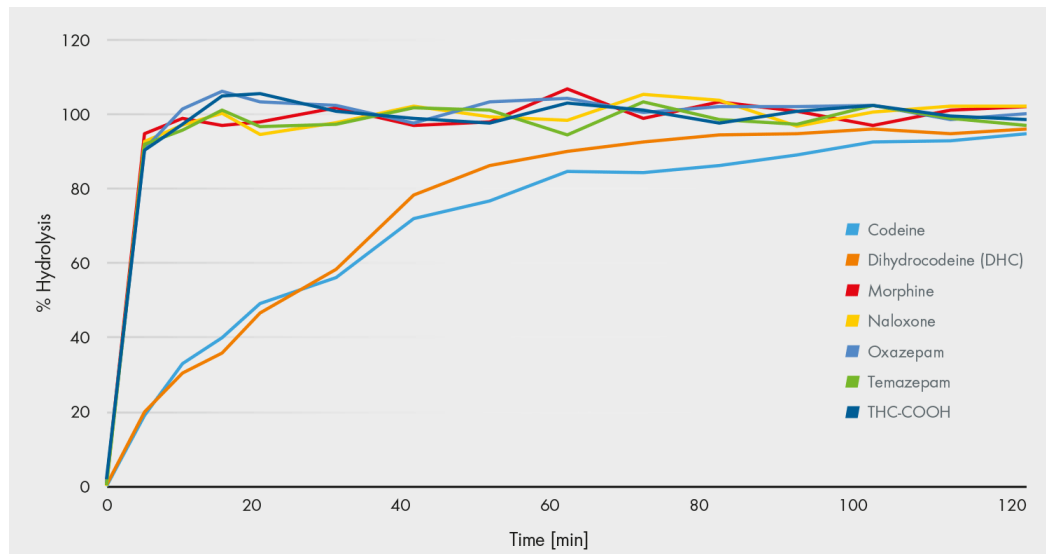




Hydrolýza bez kompromisů



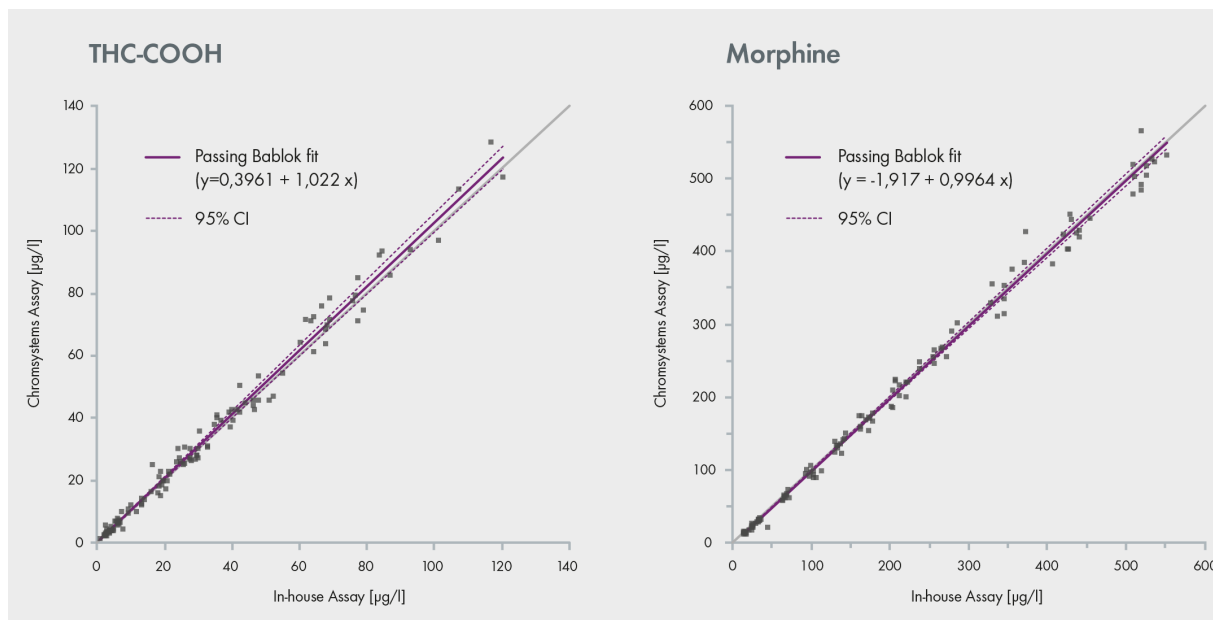
- Pečlivě zvolený enzym
- Kompletní a selektivní hydrolýza všech glukuronidovaných léčivých látek
- Včetně obtížně hydrolyzovatelných látek, jako je kodein





Ověřená metoda

- Srovnání se zavedenými in-house metodami
- Hodnoty spolu velmi dobře korespondují
- Test se také úspěšně používá v programech testování odborné způsobilosti GTFCh, Instand a RfB.

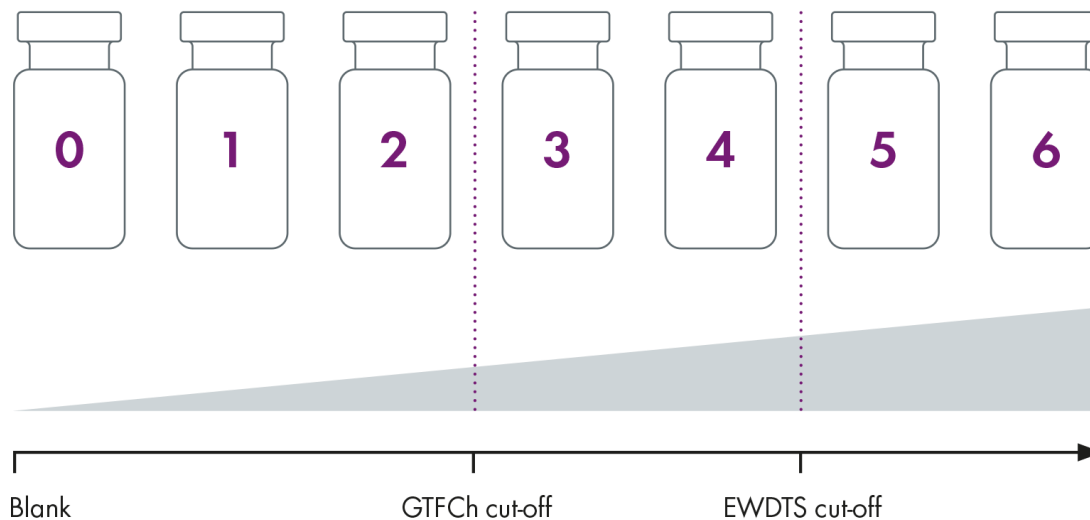




Kalibrátory a kontroly

- Jedna hladina: Standardní sada pro screening moči
- 6PLUS1[®] Víceúrovňová sada kalibrátorů v moči
- **MassCheck[®]** Kontroly Level I - III

NOVINKA: Na webových stránkách www.chromsystems.com jsou nyní nově k dispozici údaje z informačních letáků v souborech Excelu. Odpadá tak ruční zadávání rozsáhlých souborů dat.





Screening a kvantitativní konfirmasiace v rámci jednoho testu?

Z technického hlediska má LC-MS/MS přesnost a selektivitu, která umožňuje provádět screening i confirmaci v jediném kroku.

Ačkoli tato analýza není vhodná pro screening neznámých látek, testování pomocí MassTox[®] Drugs of Abuse zahrnuje nejvýznamnější analyty v klinickém prostředí.

Test také umožňuje cílený screening a kvantitativní confirmaci více než 100 drog v jediném testu, včetně benzodiazepinů, opioidů, boosterů a Z-drog.

V případě pozitivního výsledku lze kvantifikovat ihned ze stejného píku.



Srovnání GC-MS vs LC-MS/MS

- GC-MS - většinu sloučenin je třeba podrobit chemické derivatizaci, aby byly těkavější. Bez derivatizace - špatný tvar píků, nižší rozlišení a snížená citlivost.
- Provedení více kroků přípravy vzorku však také zvyšuje riziko chyb a může být náchylné k nejistotám, jako je kvalita činidla, přítomnost interferencí a proměnlivé laboratorní podmínky.
- Naproti tomu LC-MS/MS nevyžaduje derivatizaci.
- Komerční LC-MS/MS assay (MassTox[®] Drugs of Abuse Testing, Chromsystems) byla laboratorně testovaná a porovnaná s GC-MS při rutinní analýze [1]. Laboratoř snížila dobu přípravy vzorku v každodenní rutině z 6 hodin (bez hydrolýzy) na 2 hodiny použitím LC-MS/MS. Přechodem z GC-MS na LC-MS/MS se také snížily zdroje potřebné pro přípravu vzorku a také objem potřebného vzorku byl výrazně nižší (viz tabulka).

	GC-MS in-house	LC-MS/MS assay
Příprava vzorků	6 h denně	2 h denně
Objem vzorku	1 – 5 ml	50 µl
Doba analýzy	10 – 15 min	12 min



Shrnutí

- 108 drog analyzovaných v jednom analytickém cyklu
- Cílený screening a kvantitativní konfirmace v jednom cyklu je technicky možná
- Doba trvání cyklu 12 minut
- Spolehlivá hydrolýza
- Jednoduchá příprava vzorku v kombinaci s vysokou selektivitou a citlivostí
- Interní standardy pro 98 analytů
- Standardizovaný a CE-IVD certifikovaný LC-MS/MS test



Děkuji za pozornost

BioTech a.s.

Služeb 4

108 00, Praha 10

+420 272 701 739

info@ibiotech.cz