

*Aktuelne teme/
Current topics*

IMUNOHROMATOGRAFSKI SKRINING
URINA. UZROCI LAŽNO POZITIVNIH I
NEGATIVNIH REZULTATA

IMMUNOCHROMATOGRAPHY URINE
SCREENING. CAUSES OF FALSE POSITIVE
AND NEGATIVE RESULTS

Correspondence to:

Kristina Denić

Centar za kontrolu trovanja,
Vojnomedicinska akademija,
Crnotravska 17, Beograd
Tel. 00381652430700
E-mail: denickristina@yahoo.com

Kristina Denić, Branislava Rusić, Marko Antunović,
Snežana Đorđević, Vladimir Nešić, Vesna Kilibarda

Centar za kontrolu trovanja, Vojnomedicinska akademija, Beograd

Ključne reči

skrining urina, imunotestovi,
lažno pozitivni i negativni rezultati

Key words

urine screening, immunoassays,
false positive and negative results

Sažetak

Testiranje zaposlenih na radnom mestu, sportista, pripadnika vojske i učenika u školama na prisustvo sredstava zloupotrebe i lekova široko je rasprostranjeno tokom poslednje decenije. U tu svrhu se najčešće koriste urinski skrining testovi. Urin je biološki uzorak izbora zbog jednostavnog uzorkovanja s jedne i brzog metabolizma i niskih koncentracija ovih jedinjenja u krvi s druge strane. Urinskim skrining testovima dobijaju se brzi preliminarni rezultati. Prednost imuno testova je velika osetljivost, ali zbog slabe selektivnosti moguće su unakrsne reakcije sa strukturno sličnim jedinjenjima, a time i dobijanje lažno pozitivnih rezultata. Osim toga, mogući su i lažno negativni rezultati koji nastaju kao posledica falsifikovanja urina. Imajući ovo u vidu, poznavanje uzroka koji dovode do lažnih rezultata je od velikog značaja za pravilno tumačenje sprovedenog testa. Prema tome svaki pozitivni rezultat na test traci mora biti potvrđen nekom od maseno spektrometrijskih metoda (GC-MS ili LC-MS).

UVOD

Toksikološka analiza uzoraka biološkog materijala podrazumeva primenu različitih imuno i hromatografskih tehnika u cilju određivanja prisustva lekova, njihovih metabolita, alkohola i psihoaktivnih supstanci (PAS). Krv, urin, kosa, saliva, znoj, nokti i uzorci tkiva organa su biološki materijali koji se mogu analizirati. Zbog jednostavnog i brzog uzorkovanja, urin je najpogodniji biološki materijal za ovu vrstu analize. Osim toga, u urinu se mogu detektovati jedinjenja koja se zbog svojih farmakokinetičkih osobina (brz metabolizam, kratko poluvreme eliminacije) ne mogu dokazati u drugom biološkom materijalu. Zato je toksikološki skrining urina prvi dijagnostički test u setu standardnih toksikoloških analiza.⁽¹⁻²⁾

Za razliku od hromatografskih tehnika koje dugo traju, imunotestovi su brzi i lako izvodljivi. To su metode za kvalitativna i/ili kvantitativna određivanja jedinjenja. Kao reagensi se koriste antitela koja se specifično vezuju za određeni deo molekula analiziranog jedinjenja koji prepoznaju kao antigen, pri čemu se detektuje kompleks antigen-antitelo.⁽¹⁾ Podela imunotestova je izvršena na osnovu tehnike kojom se vrši detekcija kompleksa antigen-antitelo. Postoje enzimski imunotestovi (EMIT-enzyme multiplied immunoassay technique), fluorescentni (FPIA-fluorescence

polarization immunoassay), imunoturbidimetrijski kao i radioimunotestovi (RIA).⁽²⁾ Osnovni principi hromatografske i imuno testova iskorišćeni su za formiranje imunohromatografskih kit sistema kojima se brzo i lako mogu detektovati kako psihoaktivne supstance tako i lekovi (benzodiazepini, triciklični antidepresivi, barbiturati, metadon) i etanol.

Analiza urina imunohromatografskim testovima na prisustvo PAS jedan je od najčešće korišćenih skrining testova. Najčešće grupe PAS koje se određuju imunohromatografskim test trakama su amfetamini, kanabinoidi, kokain, opijati i njihovi metaboliti. Široka upotreba urinskih skrining testova objašnjava se jednostavnim i brzim izvođenjem analize, a time i brzo dostupnim preliminarnim rezultatima. Osim kod osoba za koje postoji sumnja o zloupotrebi PAS, imunohromatografski skrining testovi se tokom poslednje decenije primenjuju prilikom rutinskih testiranja zaposlenih na radnom mestu, pripadnika vojske, učenika u školama i sportista. Takođe, često se koriste za testiranje prekršioaca zakona za koje se sumnja da su počinili krivično delo pod uticajem PAS.⁽¹⁻²⁾

Iako se pomoću urinskih skrining testova na PAS dobijaju brzi preliminarni rezultati, oni se dodatno moraju potvrditi masenom spektrometrijom. Ovakve tehnike su tačnije i

osetljivije, ali vremenski zahtevnije i skuplje. U te svrhe koriste se gasno-masena (GC-MS) ili tečno-masena hromatografija (LC-MS). Potvrda masenom spektrometrijom je neophodna zbog mogućih lažno pozitivnih ili negativnih rezultata na test trakama. Lažni rezultati mogu nastati kao posledica ukrštenih reakcija sa jedinjenjima strukturno sličnim analitu od interesa.⁽²⁾ Imajući ovo u vidu, poznavanje uzroka koji dovode do nepouzdanih rezultata je od velikog značaja za pravilnu interpretaciju sprovedenog imunohromatografskog testa.

Cilj ovog rada je da prikaže uzroke lažno pozitivnih i negativnih rezultata urinskih skrining testova na PAS.

MATERIJAL I METODE:

Materijal:

1654 uzoraka urina testiranih na prisustvo PAS

Metode:

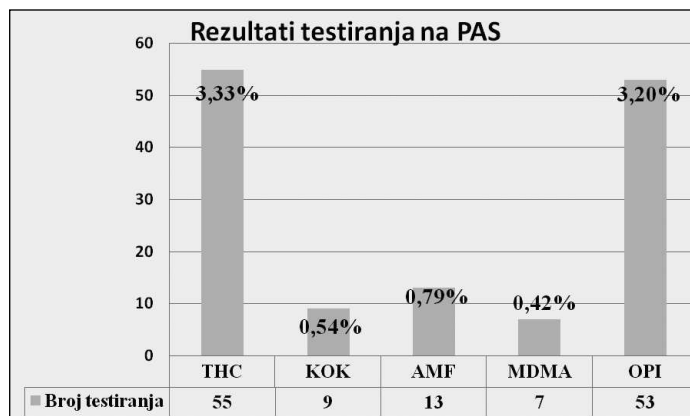
Doa MultiGnost test traka za detekciju:

- opijata morfinske strukture (morfin, kodein, heroina, opijum – LoD-300 ng/mL)
- kanabinoida (metabolit 11-nor- Δ^9 -THC-9-COOH – LoD - 50 ng/mL)
- amfetamina (LoD-1000 ng/mL)
- MDMA (LoD-500 ng/mL)
- kokaina (metabolit benzoilekgonin – LoD - 300 ng/m)

LC-MS sistem (Waters 2695 spregnut sa ZQ masenim spektrometrom sa elektrosprejem kao izvorom jonizacije) podržan Masslynx software-om.

REZULTATI

Tokom perioda januar-oktobar 2013. godine u Odeljenju za toksikološku hemiju, Centra za kontrolu trovanja, Vojnomedicinske Akademije, analizirano je 1654 uzorka urina na prisustvo PAS. Od ukupnog broja sprovedenih analiza 137 testova bilo je pozitivno na neku od psihoaktivnih supstanci (Slika 1). Najveći broj ispitanika bio je pozitivan na prisustvo kanabinoida (3,33%) i opijata morfinske strukture (3,20%).



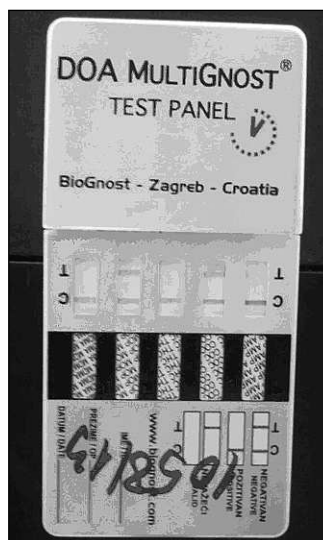
Slika 1. Rezultati testiranja na PAS imunohromatografskim test trakama tokom deset meseci 2013.godine

Lažno pozitivnih rezultata bilo je ukupno 11 (1 lažno pozitivan na prisustvo amfetamina i 10 na prisustvo opijata morfinske strukture), što iznosi 0,7% od ukupnog broja testiranih. Potvrda rezultata urađena je masenom spektrometrijom (LC-MS).

DISKUSIJA

Urinskim test trakama se mogu detektovati jedinjenja iz iste ili više različitih farmakoloških grupa lekova. Takođe, postoje test trake kojima se osim lekova kvalitativno analiziraju i sredstva zloupotrebe (Slika 2). Iz grupe PAS najčešće su zloupotrebljavani opijati morfinske strukture (heroin) i kanabinoidi. Prema podacima Centra za kontrolu trovanja u poslednje tri godine zabeležen je i porast zloupotrebe kokaina i jedinjenja amfetaminske strukture.⁽³⁾ Od lekova, najčešće se zloupotrebljavaju benzodiazepini. Ovi podaci su slični svetskim podacima o analizi PAS. Shodno tome, imunohromatografskom test trakom se kvalitativno najčešće analizira sledećih pet grupa jedinjenja:

- opijati morfinske strukture
- kanabinoidi
- amfetamini
- kokain
- benzodiazepini



Slika 2. Test traka za PAS pozitivna na MDMA, kanabinoida i amfetamin

Opijati morfinske strukture

Predstavnici ove grupe jedinjenja su morfin i kodein. To su alkaloidi izolovani iz čaura opijumskog maka (*Papaver somniferum*). Morfin pokazuje efekte analgetika zbog čega se primenjuje u terapiji izrazito jakih bolova, dok se kodein koristi kao antitusik. Zbog neželjenih efekata (euforija, sedacija, psihička i fizička zavisnost i depresija disanja), upotreba opioidnih anestetika je strogo kontrolisana. Euforija, hiperaktivnost i posledična zavisnost koja se razvija, iskorišćena je za proizvodnju polusintetskih opioidnih jedinjenja. Heroin (diacetilmorfin) kao polusintetski derivat morfina najčešće se zloupotrebljava. Zato je njegova detekcija u biološkom materijalu od izuzetne važnosti kod sumnje na zloupotrebu. Heroin se u organizmu brzo metaboliše do 6-monoacetilmorfina (6-MAM), kodeina, morfina i morfin glukouronida. Zbog brze metaboličke transformacije njegova detekcija u biološkom

uzorku je otežana. Svega 3-5 minuta nakon upotrebe, heroin je moguće detektovati u serumu. Nakon toga u biološkom materijalu moguće je dokazati prisustvo njegovih metabolita. Poluvreme eliminacije 6-MAM je 36 minuta, što otežava njegovu detekciju u serumu, ali se u urinu može naći i do 8 sati nakon upotrebe heroina. Zbog toga je urin, biološki uzorak izbora kod osoba za koje se sumnja da su konzumirale heroin.⁽²⁾

Positivna test traka na opijate morfinске strukture (MOP) ne mora da znači da je ispitanik konzumirao heroin. Za potvrdu dobijenih rezultata neophodno je koristiti masenu spektrometriju (GC-MS, LC-MS).^(1-2,4) Upotrebom masene spektrometrije moguće je dokazati prisustvo morfina, kodeina i 6-MAM. Dokazano prisustvo 6-MAM je jedina potvrda zloupotrebe heroina. Suprotno tome, prisustvo morfina i kodeina nije sigurna potvrda upotrebe heroina.

Postoji više razloga koji mogu dovesti do neslaganja rezultata dobijenih test trakama i hromatografskim tehnikama. U tom smislu, lažno pozitivni rezultati na test traci mogu biti posledica unakrsne reakcije sa jedinjenjima koji u svojoj osnovi imaju morfinску strukturu. Tako na primer, upotreba veće količine hrane koja sadži mak može dovesti do lažno pozitivnih rezultata na test traci. U zavisnosti od količine unetog maka, zavisice i dužina perioda u kome se može detektovati morfin odnosno kodein.⁽²⁾ Upotreba medikamenata koji u svojoj osnovi imaju morfinскую strukturu (Caffetin®, Folkodin®, kombinovani prašak za bolove) takođe doprinose dobijanju pozitivnih rezultata na test trakama. Osim toga, literaturni podaci ukazuju da upotreba rifampina, rifampicina i fluorohinolona interferira sa opijskim imunohromatografskim testovima.⁽²⁾

Limit detekcije (LoD) opijata morfinске strukture razlikuje se između regiona. Tako na primer, SAD preporučuje limit detekcije 2000 ng/mL, a Evropska unija i Velika Britanija 300 ng/mL. Do 1998. godine i u SAD limit detekcije bio je 300 ng/mL, ali zbog velike učestalosti lažno pozitivnih rezultata uzrokovanih terapijskom upotrebom opioidnih lekova i korišćenja semena maka u ishrani, ovaj limit je povećan na 2000 ng/L. Svi uzorci u kojima je koncentracija opijata morfinске strukture veća od 2000 ng/mL moraju se analizirati masenom spektrometrijom, pri čemu je traženi limit detekcije za 6-MAM 10 ng/mL.⁽⁵⁾

Prema podacima Odeljenja za toksikološku hemiju od ukupno 1654 testiranih ispitanika, 53 je bilo pozitivno na opijate morfinске strukture. Tečnom hromatografijom sa masenom spektrometrijom potvrđeno je prisustvo 6-MAM u 43 uzorka. U 10 uzoraka dokazano je prisustvo kodeina i morfina, a 6-MAM nije dokazan. Ovi uzorci su bili lažno pozitivni na zloupotrebu heroina.

Sa druge strane, urinske test trake na MOP mogu dati i lažno negativne rezultate. Jedan od razloga može biti taj da je koncentracija opioidnog jedinjenja niža od limita detekcije testa. Uzroci koji dovode do toga su:⁽²⁾

- razblažen urin (unos većih količina tečnosti ili upotreba diuretika)
- falsifikovanje urina materijama kao što su sapuni, limnov sok, čistači odvoda, amonijak, hlorni izbeljivači, soli (Na i K - nitriti), komercijalni proizvodi koji sadrže glutaraldehyd, pirdin hlorohromat i peroksidi

- kasno uzorkovanje urina od trenutka zloupotrebe opijata
- prerano uzorkovanje urina
- laktat-dehidrogenaza i povećani laktati u postmortem uzorcima

Kanabinoidi

Marihuana (*Canabis sativa*) je najčešće zloupotrebljavana droga iz grupe PAS. Aktivni princip je Δ -9-tetrahidrokanabinol (THC), koji vezivanjem za kanabinoidne receptore CB1 ostvaruje svoj psihoaktivni efekat. Metaboličkom transformacijom u organizmu prevodi se u niz metabolita od kojih je najvažniji 11-nor- Δ -9-tetrahidrokanabinol-9-karboksilna kiselina (THC-COOH). Urinskim test trakama se mogu detektovati THC, metaboliti THC pri čemu je detekcija farmakološki aktivnog THC-COOH najznačajnija. Učestalost zloupotrebe kanabisa utiče na dužinu perioda tokom kojeg je moguće detektovati THC-COOH i druge metabolite THC u urinu. Tako će posle pojedinačne upotrebe kanabisa urinski skrining test biti pozitivan i do nedelju dana od trenutka konzumiranja, a nakon hronične zloupotrebe i do 46 dana od poslednje upotrebe.^(2,6-7)

Osobe koje zloupotrebljavaju kanabis često prilikom testiranja pokušavaju da manipulišu uzorkom urina u cilju dobijanja lažno negativnih rezultata na test trakama. U tu svrhu se najčešće u urin dodaju kapi za oči (Visine®) koje sadrže benzalkonijum hlorid i boratni pufer. Ove hemijske supstance dovode do smanjenja koncentracije THC-COOH do ispod limita detekcije (50 ng/mL) i time do lažno negativnih rezultata. Kako ne utiču na hemijsku strukturu THC-COOH u tako izmenjenom urinu je moguće dokazati njeno prisustvo masenom spektrometrijskim metodama.⁽²⁾

Pored lažno negativnih mogu se dobiti i lažno pozitivni rezultati. Literaturni podaci ukazuju da efavirenz, njegovi metaboliti i inhibitori protonске pumpe mogu biti uzročnici lažno pozitivnih rezultata. U radu Moeller i saradnika prikazani su rezultati sprovedenih studija koji ukazuju da nesteroidni antiinflamatorni lekovi mogu da interferiraju i daju lažno pozitivne rezultate na THC.

Prema podacima Centra za kontrolu trovanja kanabinoidi su najčešće zloupotrebljavane psihoaktivne supstance. Od 1654 testirana uzorka 55 je bilo pozitivno na kanabinoide. U svim uzorcima potvrđeno je prisustvo THC-karboksilne kiseline LC-MS metodom.

Kokain

Kokain je potentan simpatikomimetik izolovan iz lišća biljke *Erythroxylon coca*. Pokazuje izraziti psihostimulativni efekat, dovodi do smanjenja apetita i povećanja stanja budnosti, zbog čega je njegova zloupotreba široko rasprostranjena. U organizmu se metaboliše do niza strukturno sličnih jedinjenja od kojih puni farmakološki efekat poseduje samo nor-kokain, dok su benzoilekgonin i ekgonin metil estar delimično aktivni. Poluvreme eliminacije kokaina je oko 1h.⁽⁸⁾

Urinskim test trakama se kvalitativno analizira benzoilekgonin. Obzirom da su izrazito retke interferirajuće reakcije sa kokainskim test trakama, može se reći da su preliminarni rezultati koje na ovaj način dobijamo precizni i

pouzdati. Iako su retki lažno pozitivni rezultati na kokain, važno je znati moguće uzroke koji do njih dovode. Upotreba čajeva i hrane koja u sebi sadrži list koke može rezultovati pozitivnom test trakom. Takođe, zabeleženo je da su kod dece koja su izložena velikim količinama kokainskog dima pozitivni rezultati na test traci.⁽²⁾

Podaci Centra za kontrolu trovanja ukazuju na porast zloupotrebe kokaina. Takođe, zabeležena su tri slučaja pokušaja krijumčarenja kokaina („body packer-“ i „body stuffer-“) u poslednje dve godine. Slika 1. pokazuje da je u toku poslednjih deset meseci bilo 9 pozitivnih testova na zloupotrebu kokaina (0,54% od ukupnog broja testiranih). Ovo nije zanemarljivo mali broj ukoliko se uzme u obzir da je uglavnom vršeno nenajavljeno testiranje ispitanika.

Amfetamini

Amfetamin, metamfetamin i MDMA (3,4-metilendioksimetamfetamin, tržišni naziv „Ecstasy“) su sintetske supstance koje pokazuju izražene stimulativne i halucinogene efekte. Na tržištu se obično nalaze u vidu tableta koje osim MDMA sadrže i amfetamin, metamfetamin, meskalin, PMA, MDA, efedrin, ketamin, kofein, LSD, heroin i dr. ⁽⁹⁻¹¹⁾

Amfetaminske test trake su dizajnirane tako da se njima detektuju metamfetamini kao racemske smeše. Za razliku od *d* – izomera metamfetamina koji je odgovoran za stimulativni efekt na nivou centralnog nervnog sistema, *l* – izomer ne deluje psihostimulativno. Zbog nemogućnosti da se imunotestovima detektuje ponaosob *l* i *d* izomer ukrštene reakcije sa *l* - metamfetaminom koji je prisutan u inhalacionim preparatima su česte. Kao posledica takvih reakcija dobijaju se lažno pozitivni rezultati. Upotrebom novijih EMIT testova ovi problemi su prevaziđeni tako da se i pri duplim inhalacionim dozama ne registruju pozitivni rezultati.⁽²⁾

Lekovi koji se koriste u terapiji Parkinsonove bolesti i depresije (selegilin i deprenil) metabolički se transformišu do *l*-amfetamina i *l*-metamfetamina. Zbog ovoga se kod osoba koje su na terapiji ovim lekovima mogu dobiti pozitivni rezultati na amfetaminskim test trakama. Kako se u ovakvim slučajevima ni GC-MS tehnikom ne mogu razdvojiti *l* i *d* izomeri, preporučuje se primena hiralne hromatografije. Takođe, mnogi psihoaktivni lekovi kao što su bupropion, trazodon, lekovi iz grupe fenotiazina (hlorpromazin, prometazin i tioridazin) i tricikličnih antidepresiva (dezipramin i doksepin) se metabolišu do jedinjenja koja interferiraju sa amfetaminskim testom i daju pozitivne rezultate. Osim toga, lažno pozitivni rezultati se mogu javiti kod osoba koje koriste preparate koji sadrže pseudoefedrin, efedrin i fenilefrin. Lekovi strukturno slični amfetaminskim jedinjenjima (labetalol, ranitidin, ritodrin...) ukršteno reagu-

ju sa antitelima specifičnim za amfetamine što rezultuje pozitivnim rezultatom na test traci.⁽²⁾

Obzirom da je veliki broj agenasa koji interferiraju sa amfetaminskim testovima, detaljna anamneza ispitanika i poznavanje uzroka odgovornih za lažno pozitivne rezultate je od velikog značaja za pravilnu interpretaciju rezultata.

Prema uputstvu koje važi u SAD-u nisu propisani limiti detekcije za MDMA, MDA i MDE za razliku od Evropske unije i Velike Britanije koje propisuju limit detekcije od 200 ng/mL. Takođe, Velika Britanija propisuje limit detekcije od 200 ng/mL za efedrin i pseudoefedrin. Limit detekcije veći od 200 ng/mL (500ng/mL za metamfetamin i 200 ng/mL za amfetamin) je određen zbog moguće hidroksilacije efedrina ili pseudoefedrina u toku procesa pripreme ili hromatografske analize uzorka, što bi dovelo do lažno pozitivnih rezultata na metamfetamin.⁽¹²⁾ Ova hemijska transformacija se može sprečiti dodavanjem perijodata u uzorak urina pre pripreme.⁽¹³⁾

Statističkom obradom rezultata sprovedenih testiranja na PAS tokom 2013. godine u Odeljenju za toksikološku hemiju, pokazano je da je od ukupno 137 pozitivnih testova, 13 je bilo pozitivno na prisustvo amfetamina. Primenom LC-MS konfirmatorne tehnike u 12 od 13 uzoraka potvrđeno je prisustvo amfetamina, dok je jedan uzorak bio lažno pozitivan.

ZAKLJUČAK

Kako je procedura skrininga namenjena da jasno razdvoji pozitivne i negativne rezultate, neophodno je dobro poznavanje imunohromatografskih testova, fizičko hemijskih osobina uzoraka i analita od interesa. Zbog brzog metabolizma i eliminacije lekova i sredstava zloupotrebe, urin je najpodesniji uzorak za skrining testove. Jedan od važnijih faktora koji utiče na pouzdanost rezultata je autentičnost uzorka i adekvatno vreme uzorkovanja. Pogrešno interpretirani rezultati testova mogu da imaju ozbiljne posledice po ispitanika u smislu neadekvatnog medicinskog zbrinjavanja, udaljavanja sa posla i sportskih takmičenja kao i izricanja zatvorske kazne. Prema tome od neprocenjive je važnosti pravilna interpretacija rezultata skrining testova i proizvodnja selektivnijih test traka kojima će se izbeći unakrsne reakcije sa jedinjenjima strukturno sličnim analitu od interesa. Bez obzira na brzinu i lakoću izvođenja skrining testova, konačan rezultat se dobija jedino nakon sprovedene konfirmatorne masene detekcije (GC-MS ili LC-MS).

Abstract

Drugs of abuse and drugs testing, commonly used for employees in the workplace, athletes, military personnel and students in schools has become widespread during the past decade. For this purpose, the most often used are urine screening tests. Urine is a biological sample of choice because of its simple collection on the one hand and rapid metabolism and low concentrations of analyzed substances in the blood on the other one. Urine screening tests obtain fast preliminary results. The main advantage of immunoassays is high sensitivity, but at the same time this tests have low selectivity. Because of that cross-reactions with structurally related compounds are possible and thus the development of false positive results. In addition, there might be a false-negative results that occur as a result of falsifying urine. Having this in mind, knowing the causes that lead to false results is of great importance for the correct interpretation of the conducted test. Therefore, every positive result on the test strip must be confirmed by the mass spectrometry methods (GC-MS or LC-MS).

LITERATURA

1. S. Djordjevic, G. Tomasevic, V. Kilibarda, Applying of toxicology screening in analysis of post mortem material – Case series of lethal overdoses by heroine and drugs, *Med. Data Rev.* 2010;2(4): 377-380
2. Moeller K, Lee K, Kissack C, Urine drug screening: Practical guide for clinicians, *Mayo Clin Proc.*, 2008, 83(1) 66-76
3. Godišnjak Centra za kontrolu trovanja, Vojnomedicinska akademija, Beograd 2012.
4. Snežana Đorđević, Vesna Kilibarda, Analitička potvrda letalnog predoziranja heroinom primenom tačne hromatografije sa UV skenirajućim detektorom i masenom spektrometrijom, *Vojnosanit. Pregl.* 2007, 64(11): 739-743
5. A. Moffat, D. Osselton, B. Widdop, Clarke's analysis of drugs and poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material, 3rd edition, Pharmaceutical Press, London-Chicago, 2004
6. S. Đorđević, Zloupotreba kanabisa i načini detekcije u biološkom materijalu, Zadužbina Andrejević, Beograd, 2006
7. Đorđević S, Krstić N, Kilibarda V, Šulić K, Jovanović B, Prikaz metoda za dokazivanje i određivanje kanabinoida u biološkom materijalu, *Med. Data Rev.* 2011, 3(1) 63-68
8. Denić K, Rusić B, Đorđević S, Lukić V, Kilibarda V, Perković-Vukčević N, Jović-Stošić J, Gasna hromatografija sa masenom spektrometrijom kao skrining metoda u detekciji kokaetilen nakon zloupotrebe kokaina i etanola, *MD-Medical Data.* 2013, 5(2) 163-166
9. Đorđević S, Tomašević G, Trovanje tabletama ekstazija sa smrtnim ishodom, *Vojnosanit. Pregl.* 2007, 64(9) 635-638
10. V. Pikula, K. Denić, B. Rusić, V. Nešić, S. Đorđević, Zloupotreba jedinjenja amfetaminske strukture, *MD-Medical Data.* 2013; 5(2): 175-178
11. Denić K, Rusić B, Đorđević S, Krstić N, Rančić D, Kilibarda V, Perković-Vukčević N, Jović-Stošić, Trovanje amfetaminima: Postoji li specifična toksična koncentracija? Prikaz dva slučaja intoksikacije amfetaminom i ?ecstasy?-ijem, *MD-Medical Data.* 2012, 4(3) 329-334
12. Hornbeck C, Carig J, Czarny R, Detection of a GC/MS artifact peak as metamphetamine, *J. Anal. Toxicol.* 1993, 17, 257-263
13. Klette K, Anderson C, Poch G, Metabolism of lysergic acid diethylamide(LSD) to 2-oxo-3-hydroxy-LSD (O-H-LSD), in human liver microsomes and cryoprocessed human hepatocytes, *J. Anal. Toxicol.* 2000, 24,550-556