

О тестировании подростков на наркотические и лекарственные вещества в Псковской области

НИКИТИНА Н.М. врач-лаборант, химико-токсикологическая лаборатория,
ГБУЗ «Наркологический диспансер Псковской области», Псков

САВЧУК С.А. старший научный сотрудник лаборатории токсикологии,
ФГБУ «Национальный научный центр наркологии» Минздравсоцразвития России, Москва

ОВСЯКОВ В.С. главный врач ГБУЗ «Наркологический диспансер Псковской области», г.Псков

Приведены результаты экспериментального тестирования подростков в возрасте 15—18 лет на содержание наркотических и лекарственных веществ в биологических объектах методами иммунной хроматографии и хромато-масс-спектрометрии.

Ключевые слова: наркотики, тестирование, региональная наркоситуация

Введение

Проведение исследований на наличие наркотических и лекарственных веществ в биологическом материале уже достаточно распространено при приеме на работу. Большинство обследованных, у которых были обнаружены наркотические вещества или их метаболиты, подтверждают, что начали употреблять их еще со школьной скамьи. Поэтому возникает необходимость выявлять случаи потребления на начальном этапе — в подростковом возрасте — для возможности корректировки аддиктивного поведения и предотвращения развития наркомании.

В Псковской области с каждым годом растёт количество молодежи до 18 лет, употребляющих или хотя бы пробовавших наркотические вещества. Так, по результатам исследований за 2009—2011 гг. освидетельствованных в химико-токсикологической лаборатории (ХТЛ) в возрасте до 18 лет видна возрастающая динамика лабораторно подтверждаемого наличия психоактивных веществ (ПАВ) при примерно одинаковом ежегодном потоке обследуемых. Число освидетельствованных, у которых было подтверждено присутствие ПАВ, в 2009 г. составило 18 чел., в 2010 г. — 26 чел., а на ноябрь 2011 г. — уже 30 чел. И это только среди тех подростков, которые попали в поле зрения наркологической службы.

В рамках исполнения межведомственного Приказа по Псковской области Государственным управлением образования Псковской области РФ, Псковским областным центром психолого-педагогической реабилитации и коррекции «Призма» и Наркологическим диспансером Псковской области было организовано экспериментальное тестирование подростков в возрасте 15—17 лет на наличие ПАВ и их метаболитов в биологических объектах с целью выявления слу-

чаев немедицинского потребления наркотических и психотропных веществ.

В период с 16 ноября по 24 ноября включительно были опробованы два варианта проведения процедуры отбора проб биологического материала и его исследования.

Объект и методы исследования

Характеристика обследованных лиц и методы пробоотбора

В рамках экспериментального тестирования были освидетельствованы учащиеся нескольких учебных заведений в возрасте 15—17 лет. Заранее были проведены собрания с преподавательским составом и с родителями учащихся, где была донесена информация врачами-наркологами и представителями УФСКН о ситуации с употреблением ПАВ по Псковской области, о самой процедуре тестирования и о клинических проявлениях наркозависимости. Затем учащимися, согласившимися на тестирование, были подписаны информированные добровольные согласия на выполнение диагностических процедур. Согласие было составлено в соответствии с Конституцией РФ и со статьями Основ законодательства РФ об охране здоровья граждан №5487-1 от 22.07.1993 г. Из 196 учащихся освидетельствовано было 185 чел. и было составлено 11 отказов. Информированные добровольные согласия детей на проведение тестирования и журнал учета учащихся были предоставлены в лабораторию организаторами мероприятия.

Были опробованы 2 варианта пробоотбора: с выездом в учебное заведение и в стенах наркологического диспансера.

По первому варианту сотрудники ХТЛ выезжали в учебное заведение и проводили пробоотбор на базе местной медсанчасти.

По второму варианту организаторами тестирования были запланированы выезды групп учащихся с сопровождающим педагогическим персоналом на транспорте УФСН в ХТЛ Наркологического диспансера Псковской области.

В обоих случаях сам процесс отбора биообъектов проходил по единой отработанной схеме сотрудниками ХТЛ в соответствии с Приказом Минздравсоцразвития России №40 и под контролем работников учебных заведений.

В качестве биологического материала для проведения исследований была выбрана моча как более информативный объект для установления факта употребления ПАВ. Каждый учащийся был внесен в журнал регистрации проб биологических объектов, где ему присваивался кодовый номер. Также подростки опрашивались лаборантом на предмет употребления в течение недели до сдачи анализа каких-либо лекарственных препаратов. Сбор образцов проходил в чистые пластиковые стаканы для биологического материала с контролем вскрытия. Стакан с кодовым номером выдавался конкретному подростку на руки в соответствии с кодировкой в журнале отбора проб. Дети проходили в туалет и собирали мочу. За порядком и для устранения фактов фальсификации за туалетом наблюдал лаборант. После сбора мочи в присутствии учащегося проводились предварительные исследования на фальсификацию мочи (температура, плотность, визуальный осмотр на наличие примесей и др.), согласие с результатами которых и соответствие кодового номера подросток подтверждал своей подписью в журнале отбора проб ХТЛ.

Химико-токсикологический анализ

Тестирование проводилось в соответствии с Приказом Минздравсоцразвития России №40 в два этапа: выполняли предварительные и подтверждающие исследования.

В качестве предварительных метода исследования был выбран иммунохроматографический метод с использованием тест-полосок для выявления факта употребления марихуаны, амфетамина, метамфетамина, опиатов, бензодиазепинов и кокаина. В соответствии с инструкцией тест-полоски опускались в контейнер с исследуемой мочой на 30 с и через 5 мин осматривались врачом-лаборантом ХТЛ. Две полосы в тестовой и контрольной зонах свидетельствовали об отрицательном результате анализа, показывающем, что в биологическом объекте не обнаружены вещества на уровне предела обнаружения данным методом. Моча, предварительный анализ которой показал сомнительный или четко положительный результат на содержание какой-либо

из шести групп наркотических и лекарственных веществ иммунохроматографическим методом, была отправлена на дальнейшие исследования подтверждающими методами (газохроматографический метод с масс-селективным детектированием (ГХ-МС) по методике скрининга и с дериватизацией пробы).

Для бланковых проб использовали мочу, заведомо не содержащую лекарственных препаратов.

Идентификация наркотических и психоактивных веществ в моче проводилась методом ГХ-МС.

Методика ГХ-МС анализа основана на идентификации определяемых веществ, выделенных из образцов мочи жидкость/жидкостной экстракцией, с последующей дериватизацией и масс-спектрометрическим детектированием [1—13]. Определяемые вещества идентифицируют в автоматическом режиме по двум аналитическим параметрам: времени хроматографического удерживания и масс-спектру.

Для выявления веществ, входящих в состав наркотических средств, психотропных и сильнодействующих веществ, с неполярными и слабополярными свойствами (опиаты, амфетамины, бензодиазепины, барбитураты и другие вещества и их метаболиты) проводились кислотный гидролиз, жидкость/жидкостная экстракция при pH9 смесью растворителей и высаливателей и последующая дериватизация трифторуксусным ангидридом (ТФАА).

На содержание каннабиноидов проводили щелочной гидролиз, жидкость/жидкостную экстракцию смесью растворителей при pH3 с последующей дериватизацией пентафторпропионовым ангидридом с пентафторпропанолом. Определяемое вещество детектируют в виде пентафторпроизводного — 11-нор-дельта-9-карбокситетрагидроканнабиноловой кислоты.

Для многокомпонентной идентификации веществ использовали режим сканирования по полному току (SCAN).

Последовательность выполнения измерений на хроматографе с масс-селективным детектором при анализе экстрактов мочи была следующей:

1. Перед началом работы анализ растворителя (этилацетата) для контроля фона прибора по определяемым веществам;
2. Анализ контрольной мочи с уже подтвержденным содержанием каких-либо определяемых веществ;
3. Анализ контрольной мочи (бланковой) с уже подтвержденным отсутствием определяемых компонентов;
4. Между пробами выполняли анализ растворителя (этилацетата) для контроля фона прибора по определяемым веществам;

5. Для автоматической идентификации в первую очередь применяли AMDIS-библиотеки, имеющие времена удерживания определяемых соединений.

Всего было проведено 4 подтверждающих анализа на содержание каннабиноидов и 50 исследований на содержание других наркотических и лекарственных веществ.

С бланковыми и контрольными пробами проводили такие же процедуры, описанные выше, что и с анализируемой мочой.

Результаты и их обсуждение

Было проведено 1117 предварительных исследований иммунохроматографическим методом в 185 биологических объектах, из них 39 биопроб было отправлено на подтверждение результатов анализа методом ГХ-МС.

Так, иммунохроматографические полоски на каннабиноиды у двух учащихся показали четкую линию розового цвета в контрольной зоне и еле просвечивающую линию в тестовой зоне, что было расценено как сомнительный результат и отправлено на дальнейшее исследование более точными аналитическими методами.

У одного подростка тест-полоска дала четко положительную реакцию (одна полоса в контрольной зоне) на группу опиатов.

Остальные образцы, направленные на дальнейшее исследование подтверждающими методами, обнаружили ложноположительную реакцию на различные исследуемые группы наркотических и лекарственных веществ.

В результате дополнительных исследований, проведенных методом ГХ-МС:

1) у двух подростков были выявлены очень низкие концентрации каннабиноидов (меньше 20 нг/мл) и в соответствии с рекомендуемыми нормами результаты были признаны отрицательными (пробы — не содержащими наркотические и лекарственные вещества);

2) у трёх подростков были обнаружены вещества, и их метаболиты, входящие в состав лекарственных препаратов, — парацетамол, фенobarбитал и анальгин метаболит.

Выводы

Пробоотбор можно проводить по любому из опробованных вариантов, описанных выше. Выбор может зависеть только от степени мобильности лабораторного состава, оснащения лаборатории расходными материалами, удобства для учащихся соблюдения правил договора о процессе исследования.

Как показала практика, точная интерпретация результатов тестирования возможна только при наличии в арсенале лаборатории зарекомендовавших себя с хорошей стороны таких подтверждающих методов, как газовая хроматография с масс-селективным детектированием. Это позволяет выявлять те лекарственные вещества, которые дают

ложноположительную реакцию в исследованиях на предварительном этапе методами на групповую принадлежность. Это несомненно улучшает качество работы наркологических служб и даёт возможность без боязни использовать тестирование детей в рутинной практике.

Список литературы

1. Никитина Н.М., Савчук С.А., Родченков Г.М., Апполонова С.А. Опыт практического применения новых ГХ-МС методик в системе химико-токсикологических лабораторий и спортивном тестировании Тезисы докладов Всероссийской конференции «Теория и практика хроматографии. Хроматография и нанотехнологии Самара 6—9 июля 2009 г. — С. 58.
2. Савчук С.А. Система удаленной идентификации и распознавания объектов сложного состава. Патент на изобретение (19)RU(11) 77474 (13) (51) МПК G06K 17/00 (2006.01). Дата начала срока действия патента 15.07.2008. Опубликовано 20.10.2008. Бюл. №29.
3. Савчук С.А., Апполонова С.А. Способ идентификации наркотических и психоактивных веществ в биологических жидкостях Патент на изобретение RU 2390771 C1 МПК G01N 30/86 (2006 01) приоритет от 05 февраля 2009 г. Опубликовано 27.05.2010. Бюл. 15.
4. Савчук С.А., Веденин А.Н. Применение программы фиксации времен удерживания при хромато-масс-спектрометрическом определении анализируемых веществ // Российский химический журнал (Ж.Рос.хим.об-ва им. Д.И.Менделеева). — 2003. — Т. XLVII, №1. — С. 141.
5. Савчук С.А., Чибисова М.В., Апполонова С.А. Анохин Л.А. Способ выявления неизвестных веществ в биологических жидкостях пациентов, принимавших наркотические или психоактивные вещества. Положительное решение от 05 мая 2010 г. по заявке 2009109664/28(013081) от 18.03.2009.
6. Biller J.E., Biemann K. Reconstructed Mass Spectra, A Novel Approach for the Utilization of Gas Chromatograph-Mass Spectrometry Data // Anal. Lett. — 1974. — Vol. 7. — P. 515—528.
7. Colby B.N. Spectral Deconvolution for Overlapping GC/MS Components // J. Amer. Soc. Mass Spectrom. — 1992. — Vol. 3. — P. 558—562.
8. Dromey R.G., Stefik M.J., Rindfleisch T.C., Duffield A.M. Extraction of Mass Spectra Free of Background and Neighboring Component Contributions from Gas Chromatography/Mass Spectrometry Data // Anal. Chem. — 1976. — Vol. 48 (9). — P. 1368—1375.
9. Hargrove W.F., Rosenthal D., Cooley P.C. Improvement of Algorithm for Peak Detection in Automatic Gas Chromatography-Mass Spectrometry Data Processing // Anal. Chem. — 1981. — Vol. 53. — P. 538—539.
10. Herron N.R., Donnelly J.R., Sovocool G.W. Software-Based Mass Spectral Enhancement to Remove Interferences from Spectra of Unknowns // J. Amer. Soc. Mass Spectrom. — 1996. — Vol. 7. — P. 598—604.
11. Pool W.G., Leeuw J.W., van de Graaf B.J. Automated Extraction of Pure Mass Spectra from Gas Chromatographic/Mass Spectrometry Data // Mass Spectrom. — 1997. — Vol. 32. — P. 438—443.
12. Shackelford W.M., Cline D.M., Faas L., Kurth G. An Evaluation of Automated Spectrum Matching for Survey Identification of Wastewater Components by Gas Chromatography-Mass Spectrometry // Analytica Chim. Acta. — 1983. — Vol. 146. — P. 25—27.
13. Stein S.E., Scott D.R. Optimization and Testing of Mass Spectral Library Search Algorithms for Compound Identification // J. Amer. Soc. Mass Spectrom. — 1994. — Vol. 5. — P. 859—866.