การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 8
"Research 4.0 Innovation and Development SSRU's 80th Anniversary"

การประเมินประสิทธิภาพของชุดทดสอบสำหรับตรวจ 11-nor-delta-9- tetrahydrocannabinol-carboxylic acid (THC-COOH) ในปัสสาวะ

Effi cacy of Screening Tests for 11-nor-delta-9- tetrahydrocannabinol-carboxylic acid (THC-COOH) Detection in Urine

จันทร์ญา แซ่มซ้อย[1], น.สพ.ดร.มาสเกียรติ บุญยฤทธิ์[2], ผศ.(พิเศษ) พล.ต.ท.ดร.ณรงค์ กุลนิเทศ[3], ผศ.ดร.ยุทธนา สุดเจริญ[4]

[1]นักศึกษาระดับปริญญาโท สาขานิติวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา

[2]อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

[3]ประธานหลักสูตรนิติวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา

[4]อาจารย์ที่ปรึกษา สาขานิติวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา

บทคัดย่อ

ในประเทศไทยพบผู้ขับขี่เสพกัญชามีอุบัติการที่ต่ำกว่าการดื่มแอลกอฮอล์ หรือการเสพยาบ้า แต่อย่างไรก็ตามไม่สามารถเพิกเฉยหรือละเลยต่อเจ้าหน้าที่รัฐได้ การตรวจคัดกรองในประเทศไทยตรวจได้โดยใช้ชุดทดสอบการตรวจอนุพันธ์ของกัญชาในปัสสาวะซึ่งเป็นขั้นตอนที่สำคัญในการตรวจสอบหรือตัดสินผู้ขับขี่ว่าเสพหรือไม่ ข้อผิดพลาดในการแปรผลของการตรวจคัดกรองกัญชาด้วยชุดทดสอบจึงอาจเกิดขึ้นได้ด้วยวิธีทางภูมิคุ้มกันวิทยาที่ต่างกันที่ขั้นตอนหรือหลักการ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพชุดทดสอบอนุพันธ์ของกัญชาในปัสสาวะ คือ 11-nor-delta-9- tetrahydrocannabinol-carboxylic acid ในปัสสาวะ โดยศึกษาชุดทดสอบที่มีหลักการ immunochromatography จำนวน 3 ยี่ห้อ มาทดสอบประสิทธิภาพ ทำการทดลองความเข้มข้นของสารมาตรฐานในปัสสาวะที่ 0, 10, 30, 50, 100 และ 200 ng/ml ตามลำดับ (รวมยี่ห้อละ 30 ตัวอย่าง) พบว่า มีค่าความไว (sensitivity), ค่าความจำเพาะ (specificity), ค่าประสิทธิภาพ (Efficiency), positive predictive value (PPV) และ negative predictive value (NPV) เท่ากับ 60, 100, 83.3, 100 และ 33.3% ตามลำดับ

คำสำคัญ: 11-nor-delta-9- tetrahydrocannabinol-carboxylic acid, immunoassay, screening tests

Abstract

Thailand, cannabis abuse drivers, was lower prevalence than alcoholic and amphetamine addicts, however, may ignore by police officers. Thai screening test kits for determine cannabis metabolites were most important to judged drivers. Missing of result interpretation on cannabis screening test kits may be occurred by different of immunoassay application and/or procedure. Aims of this research were to compare efficacy of test kits for 11-nor-delta-9- tetrahydrocannabinol-carboxylic acid detection in urine. All test kits were principled immunochromatography technique and three brands of test kits were included brand A , B and C. Each test kit was evaluated with 0, 10, 30, 50, 100 and 200 ng/ml of standard compound dissolved in urine, respectively (total = 30 samples for each brand). The results shown that test kits were presented sensitivity, specificity, Efficaincy, positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV), which were 60, 100, 83.33, 100, and 33.3%, respectively

Keywords: 11-nor-delta-9- tetrahydrocannabinol-carboxylic acid, immunoassay, screening tests

บทนำ

กัญชา (*Cannabis sativa L.*) ใช้เป็นยาเสพติดประเภทออกฤทธิ์ต่อจิตประสาท มีการใช้เส้นใยเป็นสิ่งทอมานานหลายศตวรรษ ทางด้านพฤษศาสตร์พืชในกลุ่มกัญชาได้แบ่งออกเป็น กัญชงและกัญชา จัดอยู่ในวงศ์ (family) Cannabaceae และ สกุล(genus) Cannabis (Fitgerald, Bronstein & Newquist, 2013) พืชในกลุ่มกัญชามีสารที่เป็นลักษณะเฉพาะ คือ cannabinoids เป็นสาร เทอปีน (terpenes) ชนิดหนึ่ง พบได้ใน ยาง กิ่ง ก้านใบ และช่อดอก สารสำคัญที่พบว่าออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาทคือ D9-tetrahydrocannabinol (THC) ส่วนมากพบในกัญชา และสาร cannabidiol (CBD) เป็นสารที่ไม่ออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาท ซึ่งพบในกัญชงมากกว่า (Clarke & Watson, 2007; Pate, 1994) กัญชาเป็นสารเสพติดที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายทั่วโลก มีผู้เสพถึง 224ล้านคน และยังมีการใช้คงที่อยู่จนถึงปัจจุบัน UNODC (2012) ในระยะเวลา 40 ปีที่ผ่านมา การควบคุมทางกฎหมายของขนิดกัญชามีข้อขัดแย้งกันมาก เนื่องจากกัญชามีการนำมาใช้ทางการแพทย์เยอะมากขึ้น การเสพกัญชาโดยการกินไม่สามารถกำหนดได้ว่าออกฤทธิ์เมื่อไหร่ถ้าเทียบกับการสูบ การดูดซึมกัญชาในช่องปากจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อผู้เสพรับประทานอาหารจำพวกไขมันสูงเข้าไป (Fitgerald et al., 2013; Volmer, 2013) หลังจากเสพกัญชาเข้าไปโดยการสูบ สาร THC จะถูกดูดซึมเข้าไปอย่างรวดเร็วผ่าน ปอดและเข้าสู่กระแสเลือด จะถูกย่อยและเปลี่ยนรูปด้วยกระบวนการทางเคมีโดยเอนไซม์ที่ตับหรือกระจายไปยังเนื้อเยื่อไขมันส่วนต่างๆ ปอดและม้าม (Berthet et al., 2016; Musshoff &

Madea, 2006) เมื่อสาร THC ถูกดูดซึมเข้าสู่ตับจะเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนรูป โดยกระบวนการ hydroxylation และ carboxylation ทำให้ได้ 11- hydroxy-Delta-9-THC (11-OH-THC) แล้วเป็น 11-Nor-Delta-9- carboxylic acid THC (THC-COOH) (Berthet et al., 2016) THC จะถูกขับออกจากร่างกายอย่างช้า ๆ มักสะสมในไขมัน ค่าครึ่งชีวิตอยู่ที่ประมาณ 1-6 ชั่วโมง สำหรับผู้ที่ใช้ไม่บ่อยนัก และ 20-36 ชั่วโมง สำหรับผู้ที่ใช้เป็นประจำ THC ถูกขับออกทางอุจจาระ 60% - 80% และส่วนน้อยที่ถูกขับออกทางปัสสาวะเพียง 20% -35% ในปัสสาวะที่ขับออกมา เมตาบอไลท์ที่พบคือ THC-COOH-glucuronide และพบ THC-COOH จำนวนเล็กน้อย (<4%) ค่าครึ่งชีวิตของTHC-COOH อยู่ที่ประมาณ 30 ชั่วโมง (Musshoff & Madea, 2006) และ 3-4 วัน (Huestis, 2007) ขึ้นอยู่กับความถี่การใช้กัญชา

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อการประเมินประสิทธิภาพของชุดทดสอบสำหรับตรวจ 11-nor-delta-9-THC-COOH ในปัสสาวะ

ขอบเขตการวิจัย

การศึกษาวิทยานิพนธ์ครั้งนี้เป็นการศึกษาเชิงคุณภาพ (qualitative) เรื่องการใช้ชุดทดสอบ 11-nor-delta-9-THC-COOH ในปัสสาวะ ดังนี้

1. **ขอบเขตประชากร** การวิจัยในครั้งนี้ได้ใช้สารมาตรฐาน11-nor-delta-9-THC-COOH มาใช้ในการทดสอบวิจัยในแต่ละความเข้มข้น ด้วยชุดทดสอบ โดยใช้ปัสสาวะจากอาสาสมัคร 10 คนที่ไม่เคยมีประวัติการใช้กัญชามาก่อน (ผู้หญิง 5 คน , ผู้ชาย 5 คน) สุ่มเลือกจาก อาสาสมัครปกติจำนวน 30 คน ที่ไม่มีการใช้ยาหรือสารเสพติดเป็นประจำ
2. **ขอบเขตตัวแปร**

   ตัวแปรอิสระ คือ ปริมาณสาร 11-nor-delta-9-THC-COOH ในปัสสาวะ

   ตัวแปรตาม คือ ประสิทธิภาพในการตรวจด้วยชุดทดสอบ11-nor-delta-9-THC-COOH
3. **ขอบเขตเวลา** ในการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยเลือกทำการวิจัยที่ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข เนื่องจากการทำวิจัยนี้มุ่งเน้นในเรื่องการทำวิจัยเพื่อตรวจด้วยชุดทดสอบ11-nor-delta-9-THC-COOH เพื่อให้ได้มาซึ่งวิธีที่มีประสิทธิภาพ สะดวกรวดเร็ว และเหมาะสมที่สุด โดยเริ่มดำเนินการวิจัยตั้งแต่เดือนธันวาคม 2558 และสิ้นสุดการวิจัยในเดือนตุลาคม 2559 รวมทั้งสิ้นเป็นระยะเวลา 11 เดือน

การทบทวนวรรณกรรม

ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับการใช้สารเสพติดออกฤทธิ์ทางจิตและประสาทในกลุ่มผู้ขับขี่ ซึ่งพบบ่อยในประเทศที่มีรายได้สูง สารเสพติดที่ใช้ในกลุ่มผู้ขับขี่ที่เกิดอุบัติเหตุทางรถยนต์ มีกัญชา (3.5-27%) โคเคน (33%), แอมเฟตามีน (4.6-14%) ฝิ่น (opioid) (19%) และ กลุ่มยานอนหลับ (benzodiazepine) (3-12%) (Appenzeller et al., 2005; Carmen et al., 2002)

Ingsathit et al. (2009) ได้สำรวจความแพร่ระบาดของยาเสพติดและแอลกอฮอล์ที่ใช้ในกลุ่มผู้ขับขี่ยานยนต์ 1,635 คน จากห้าภูมิภาคของประเทศไทยระหว่างปี 2005-2006 ยาเสพติดที่ออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาทที่ตรวจพบจากตัวอย่างปัสสาวะใน 158 คน (9.7%) พบยาที่ถูกกฎหมาย 3 ชนิดคือ ยาแก้แพ้ (antihistamines) (2.0%), ยาแก้ไอ (0.7%) และกลุ่มยานอนหลับ (benzodiazepines) (0.2%) ยาเสพติดที่ตรวจพบคือ ยาบ้า(amphetamine) (1.8%), กัญชา (cannabis) (1.1%) พืชกระท่อม (mitragynine) (0.9%) และมอร์ฟีน (0.1%) จากรายงานดังกล่าวพบว่าผู้ขับขี่ที่เสพกัญชามีจำนวนน้อยกว่าผู้เสพยาบ้า ซึ่งจำนวนดังกล่าวอาจทำให้เกิดการมองข้ามของเจ้าหน้าที่ได้ โดยเจ้าหน้าที่หันมาให้ความสนใจกับผู้ขับขี่ที่ดื่มแอลกอฮอล์และเสพยาบ้าที่มีจำนวนมากขึ้นเรื่อยๆจากการตรวจพบ อย่างไรก็ตามเจ้าหน้าที่ควรมีการเก็บปัสสาวะผู้ขับขี่เพื่อตรวจคัดกรองหากัญชาด้วยชุดทดสอบ ดังนั้นชุดทดสอบแบบคัดกรองเบื้องต้นในประเทศไทยมีความสำคัญอย่างมากในการระบุว่าผู้ขับขี่มีการใช้กัญชาหรือไม่

วิธีดำเนินการวิจัย

สารเคมี

สารละลายมาตรฐาน 11-nor-delta-9-THC-carboxylic acid (THC-COOH, standard solution) (Cerilliant : Austin, TX), Methanol (Merck), ชุดตรวจกัญชาแบบหยด (caste test) (JSP Pharmaceutical Manufactory, Thailand; Bioline: BRIA LAB, Thailand), ชุดตรวจกัญชาแบบจุ่ม (strip test) (Bioline: BRIA LAB, Thailand)

การเก็บปัสสาวะและการเตรียมตัวอย่าง

เก็บปัสสาวะจากอาสาสมัคร 10 คนที่ไม่เคยมีประวัติการใช้กัญชามาก่อน (ผู้หญิง 5 คน , ผู้ชาย 5 คน) โดยโครงการวิจัยจะต้องผ่านความเห็นชอบจากคณะกรรมการส่งเสริมการวิจัยในมนุษย์คณะกรรมการจริยธรรมและอาสาสมัครทุกคนได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษร ปริมาตรปัสสาวะโดยรวมจากอาสาสมัครที่เก็บได้ประมาณ 1 ลิตร (เฉลี่ย 100 มิลลิตรต่อคน) ตัวอย่างปัสสาวะที่เก็บได้จากอาสาสมัครจะถูกเก็บรักษาในความเย็นก่อนนำส่งไปยังห้องปฏิบัติการเพื่อนำไปเตรียมตัวอย่างที่ความเข้มข้น 10, 30, 50, 100 และ 200 ng / ml ตามลำดับ

การเตรียม Stock standard THC-COOH

โดยนำ THC-COOH 50 µl ปรับปริมาตรด้วย methanol ให้ได้ปริมาตร 5 ml

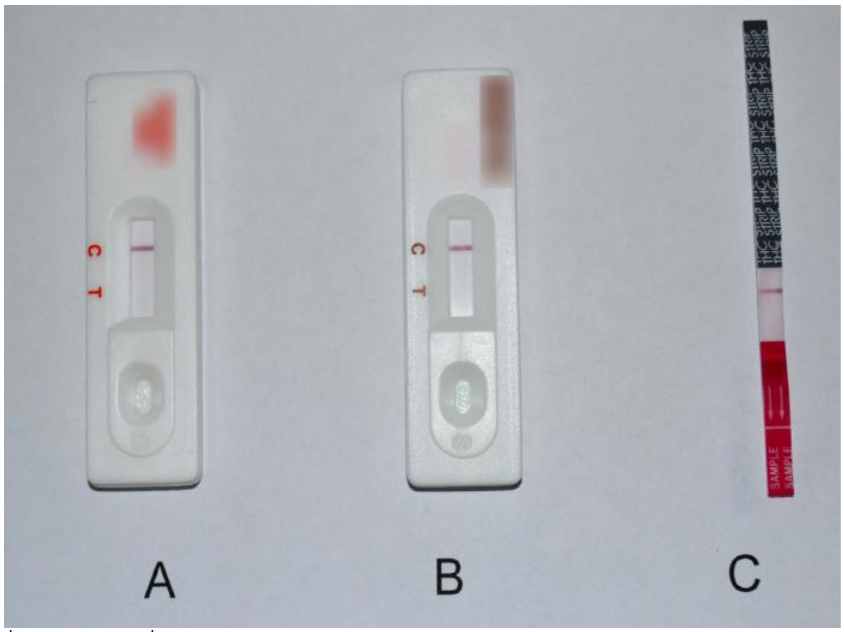
การตรวจสอบ THC-COOH โดยชุดทดสอบ

สาร THC-COOH (Stock standard) แต่ละความเข้มข้น (10, 30, 50, 100 และ 200 ng / ml) ที่ละลายใน ปัสสาวะ (pooled urine) นำไปทดสอบกับชุดทดสอบ (แบบหยด 2 ยี่ห้อ และแบบจุ่ม 1 ยี่ห้อ)

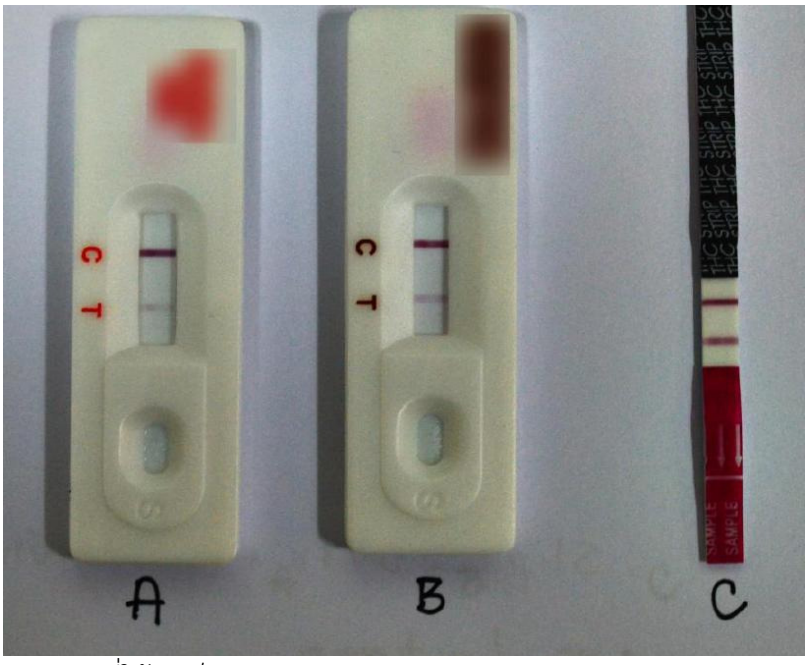
ตามคำแนะนำของผู้ผลิต แต่ละความเข้มข้นทำการทดสอบ 5 ซ้ำต่อชุดทดสอบ การอ่านผลการทดสอบปรากฏแถบสีม่วงแดง 1 แถบ ที่แถบควบคุม (control line) อ่านผลเป็นบวก (positive), สีม่วงแดง 2 แถบ ที่แถบควบคุมและแถบทดสอบ (control and test lines) อ่านผลเป็นลบ (negative) และสีม่วงแดง 1 แถบ ที่แถบทดสอบ (test lines) แปรผลไม่ได้ (invalid) นำผลที่ได้มาคำนวณ ความไว (sensitivity),ความจำเพาะ (specificity), positive predictive value (PPV), negative predictive value (NPV) และประสิทธิภาพของชุดทดสอบ(efficiency) ได้โดยใช้สูตรดังนี้ %ความไว = (TP / TP + FN) × 100; % ความจำเพาะ = (TN / TN + FP) × 100; PPV% = (TP / TP + FP) × 100; % NPV = (TN / TN + FN) × 100; % ประสิทธิภาพ= (TP + TN / TP + FP+ TN + FN) × 100 (กำหนดTP = ผลบวกจริง ,TN = ผลลบจริง, FP = ผลบวกเท็จและ FN = ผลลบเท็จ)

ผลการวิจัย

จากการทดสอบด้วยชุดทดสอบสาร THC-COOH เมื่อพิจารณาเพียงที่ความเข้มข้น 50-200 ng/ml ตัวอย่างที่ให้ผลเป็นบวก (ภาพที่ 1) พบว่า มีค่า ความไว (sensitivity), ค่าความจำเพาะ (specificity), Positive predictive value (ppv) , Negative predictive value (NPV) และประสิทธิภาพ (efficacy) เท่ากับ 60, 100, 100, 33.33 และ 83.33% ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 1 ที่ความเข้มข้นต่ำกว่า 50 ng/ml นั้น ให้ผลเป็นลบทั้ง 3 ยี่ห้อ (ภาพที่ 2) ซึ่งเป็นไปตามกำหนดของบริษัทที่กล่าวไว้



ภาพที่ 1 ตัวอย่างที่ให้ผลบวก (A) Bioline (card), B) JSP (card), C) Bioline (strip))



ภาพที่ 2 ตัวอย่างที่ให้ผลเป็นลบ (A) Bioline (card), B) JSP (card), C) Bioline (strip))

ตารางที่ 1 ผลการประเมินชุดทดสอบ (sensitivity, specificity, PPV, NPV and efficacy)

Parameter/test kit	Card test kit I (%)	Card test kit II (%)	Strip test kit (%)
Sensitivity	60	60	60
Specificity	100	100	100
PPV	100	100	100
NPV	33.33	33.33	33.33
Efficiency	88.33	88.33	88.33

สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

จากการทดลองการเปรียบเทียบประสิทธิภาพชุดทดสอบด้วยสาร 11-nor-delta-9-THC-COOH พบว่า การศึกษาในครั้งนี้ได้ทำการตรวจแบบคัดกรองเบื้องต้น ซึ่งเป็นหลักการแบบภูมิคุ้มกันวิทยา (Immunoassay) โดยการทดลองครั้งนี้ ใช้ชุดทดสอบ 3 ยี่ห้อ มาเปรียบเทียบกัน ซึ่งยี่ห้อ A, B ใช้วิธีการแบบหยด ในขณะที่ยี่ห้อ C ใช้วิธีการแบบจุ่ม ทำการทดสอบยี่ห้อละ 30 ตัวอย่าง ตั้งแต่ความเข้มข้นที่ 0, 10, 30, 50, 100 และ 200 ng/ml ตามลำดับ พบว่า มีค่า ค่าความไว (sensitivity), ค่าความจำเพาะ (specificity), ค่าประสิทธิภาพ (Efficiency), positive predictive value (PPV) และ negative predictive value (NPV)

เท่ากับ 60, 100, 83.3, 100 และ 33.3% ตามลำดับ เมื่อพิจารณาเฉพาะที่ความเข้มข้น 50, 100 และ 200 ng/ml พบว่ามีค่าความไว (sensitivity) เท่ากับ 100% และที่ความเข้มข้น 30 และ10 ng/ml นั้น มีค่าต่ำกว่า cut-off (50 ng/ml) ให้ผลเป็นลบทั้ง 3 ยี่ห้อ ซึ่งเป็นไปตามกำหนดของบริษัทที่กล่าวไว้ อย่างไรก็ตาม ระยะเวลาการอ่านผลการปรากฏของแถบสี ของแต่ละยี่ห้อและความเข้มข้น อยู่ในช่วงที่ไม่เท่ากัน คือ ที่ความเข้มข้นที่ 50 ng/ml ยี่ห้อ A, B และ C ค่าเฉลี่ยของเวลาเท่ากับ 47.006, 49.368 และ 19.650 วินาที ตามลำดับ ที่ความเข้มข้นที่ 100 ng/ml ยี่ห้อ A, B และ C ค่าเฉลี่ยของเวลาเท่ากับ 47.192, 49.690 และ 20.722 วินาที ตามลำดับ ที่ความเข้มข้นที่ 200 ng/ml ยี่ห้อ A, B และ C ค่าเฉลี่ยของเวลาเท่ากับ 42.258, 57.846 และ 10.122 วินาที ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่ายี่ห้อ C ให้เวลาในการอ่านผลที่เร็วกว่า จึงใช้เป็นข้อคำนึงถึงในการใช้ชุดทดสอบในภาคสนาม

เอกสารอ้างอิง

ณัฐ ตันศรีสวัสดิ์ และศิรินันท์ เอี่ยมภักดิ์. (2550). นิติพิษวิทยา (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ยาใจ อภิบุณโยภาส และวินัย วนานุกูล. (2552). ภาวะพิษจากกัญชา. จุลสารพิษวิทยา. 17(2), 3-5.

Appenzeller, B.M., Schneider, S., Yegles, M., Maul, A. & Wennig R. (2005). Drugs and chronic alcohol abuse in drivers. Forensic Sci International. 155(2-3), 83-90.

Bagshaw, S.M. & Hagan, N.A. (2002). Medical efficacy of cannabinoids and marijuana: a comprehensive review of the literature. Journal of Palliative Care. 18(2), 111-122.

Berthet, A., De Cesare, M., Favrat, B., Sporkert, F., Augsburger, M., Thomas, A. et al. (2016). A systematic review of passive exposure to cannabis. Forensic Sci International. 269, 97-112.

Carmen del Rio, M., Gomez, J., Sancho, M. & Alvarez, F.J. (2002). Alcohol illicit drugs and medicinal drugs in fatally injured drivers in Spain between 1991 and 2000. Forensic Sci International. 127(1-2). 63-70.

Clarke, R.C. & Watson, D.P. (2007). Cannabis and natural cannabis medicine. In ElSohly, M.A. (Ed.), Marijuana and the Cannabinoids. (pp. 1-16). New Jersey: Humana Press.

Cone, E.J., Bigelow, G.E., Herrmann, E.S., Mitchell, J.M., LoDico, C., Flegel, R., et al. (2015). Non-smoker exposure to secondhand cannabis smoke. I. Urine screening and confirmation results. Journal of Analytical Toxicology. 39(1), 1-12.

Fellermeier, M., Eisenreich, W., Bacher, A. & Zenk, M.H. (2001). Biosynthesis of cannabinoids. European Journal of Biochemistry. 268(6), 1596-1604.

Fitzgerald, K.T., Bronstein, A.C. & Newquist, K.L. (2013). Marijuana poisoning. Topics in Companion Animal Medicine. 28(1), 8-12.

Goulle, J.P., Saussereau, E. & Lacroix, C. (2008). Delta-9-tetrahydrocannabinol pharmacokinetics. Annales Pharmaceutiques Francaises. 66(4), 232-244.

Guy, G.W., Whittle, B.A. & Robson, P.J. (Eds.). (2004). The Medicinal Uses of Cannabis and Cannabinoids. London: Pharmaceutical Press.

Huestis, M.A. (2007). Human cannabinoid pharmacokinetics. Chemistry & Biodiversity. 4(8), 1770-1804.

Ingsathit, A., Woratanarat, P., Anukarahanonta, T., Rattanasiri, S., Chatchaipun, P., Wattayakorn, K., et al. (2009). Prevalence of psychoactive drug use among drivers in Thailand: a roadside survey. Accident Analysis and Prevention. 41(3), 474-478.

Kelly, E., Darke, S. & Ross, J. (2004). A review of drug use and driving: epidemiology, impairment, risk factors and risk perceptions. Drug and Alcohol Review. 23(3), 319-344.

Kelly, P. & Jones, R.T. (1992). Metabolism of tetrahydrocannabinol in frequent and infrequent marijuana users. Journal of Analytical Toxicology. 16(4), 228-235.

Martin, B. & Szara, S. (1998). Marijuana. In Haddad, L.M., Shannon, M.W. & Winchester, J.F. (Eds.), Clinical Management of Poisoning and Drug Overdose (3rd ed.). (pp. 528-541). Philadelphia: Saunders W.B.

McGuigon, M. (2006). Cannabinoids. In Goldfrank, L.R., Flomenbaum, N.E., Lewin, N.A., et al. (Eds.), Goldfrank's Toxicological Emergencies (8th ed.). (pp. 1212-1220). New York: McGraw-Hill.

Moffat, A.C. (1986). Monitoring urine for inhaled cannabinoids. Archives of Toxicology. 9, 103-110.

Musshoff, F. & Madea, B. (2006). Review of biologic matrices (urine, blood, hair) as indicators of recent or ongoing cannabis use. Therapeutic Drug Monitoring. 28(2), 155-163.

Niedbala, R.S., Kardos, K.W., Fritch, E.F., Kunsman, K.P., Blum, K.A., Newland, G.A., et al. (2005). Passive cannabis smoke exposure and oral fluid testing. II. Two studies of extreme cannabis smoke exposure in a motor vehicle. Journal of Analytical Toxicology. 29(7), 607-615.

Pate, D.W. (1994). Chemical ecology of cannabis. Journalof International Hemp Association. 29, 32-37.

Rohrich, J., Schimmel, I., Zorntlein, S., Becker, J., Drobnik, S., Kaufmann, T., et al. (2010). Concentrations of delta9-tetrahydrocannabinol and 11-nor-9-carboxytetrahydrocannabinol in blood and urine after passive exposure to Cannabis smoke in a coffee shop. Journal of Analytical Toxicology. 34(4), 196-203.

UNODC World Drug Report. (2012). United Nations publication. Sales No. E.12.XI.1.

Volmer, P.A. (2013). Recreational drugs. In Peterson, M.E. & Talcott, P.A. (Eds.), Small Animal Toxicology (3rd ed.). (pp. 309-334). Philadelphia: Saunders W.B.

Wall, M.E., Brine, D.R. & Perez-Reyes, M. (1976). Metabolism of cannabinoids in man. In Braude, M.C. & Szara, S. (Eds.), The Pharmacology of Marijuana. (pp. 93-116). New York: Raven Press.

Wei, B., Wang, L. & Blount, B.C. (2015). Analysis of Cannabinoids and Their Metabolites in Human Urine. Analytical Chemistry. 87(20), 10183-10187.