

## تست سریع مت امفتامین روزان

تست سریع و یک مرحله‌ای برای تشخیص کیفی مت امفتامین در نمونه ادرار انسانی جهت تشخیص در محیط خارج از بدن (in vitro)

## کاربرد

این تست یک روش ایمنونواسی کروماتوگرافیک برای تشخیص مت امفتامین در ادرار می‌باشد. این تست تنها فراهم کننده یک نتیجه ابتدایی است . یک روش جایگزین اختصاصی تر باید برای اثبات نتیجه اولیه به کار گرفته شود که کروماتوگرافی گازی- اسپکترومتری جرمی (GC/MS) روش ارجح است. ملاحظات بالینی و تخصصی باید در مورد هر نوع تست سوء مصرف مواد به ویژه در زمان وجود نتایج اولیه مثبت مدنظر باشد.

## مقدمه

مت امفتامین یک داروی محرک اعتیاد آور است که به شدت بر روی سیستم عصبی مرکزی تأثیر می‌گذارد. مت امفتامین شباهت بسیاری با امفتامین دارد، اما تأثیر آن بر روی سیستم عصبی مرکزی بسیار بیشتراز امفتامین می‌باشد . متا امفتامین در آزمایشگاه‌های غیر قانونی یاخته می‌شود و پتانسیل بالایی از نظر سوء مصرف و وابستگی (اعتیاد) دارد. این دارو به صورت خوراکی ، تزریقی و استنشاقی مصرف می‌شود. مصرف این دارو در دوز بالا منجر به تحریک سیستم عصبی مرکزی شده که آقاری چون ، بی خوابی ، تحریک پذیری ، کاهش اشتها و حس افزایشی قدرت و انرژی می‌شود. پاسخ سیستم قلبی عروقی به مصرف مت امفتامین شامل افزایش ضربان قلب و فشار خون می‌باشد . دیگر عوارض ناشی از مصرف مت امفتامین شامل : ترمم ، پارانویا ، افزایش حس خشونت ، خشکی دهان ، سردرد و سرگیجه و در بعضی موارد افسردگی و حس خشکی می‌باشد.تأثیر مت امفتامین به صورت معمول حدود ۲-۴ ساعت بوده و نیمه عمر آن در بدن ۲۴-۹ ساعت می‌باشد. در ادرار با pH نرمال به حدود ۴۳٪ دوز مت امفتامین به صورت تغییر نیافته در ۲۴ ساعت افزایش می‌یابد.مت امفتامین به صورت معمول بسته به pH ادرار ۵ – ۲ روز بعد از مصرف قابل تشخیص می‌باشد.

## فرآیند

این تست ، یک روش ایمنونواسی سریع بر اساس خاصیت اتصال رقابتی است. مواد مخدر موجود در ادرار با داروهای مخدر متناظر که بر سطح عشاء نیترو سلولز تثبیت شده برای اتصال به انتی بادی تثبیت شده روی نانو ذرات طلا رقابت می‌کنند. در طی انجام آزمایش نمونه ادرار بر اساس خاصیت مویبینگی به سمت بالا حرکت می‌کند. اگر امفتامین در سطوح کمتر از ۵۰۰ ng/ml در ادرار وجود داشته باشد، انتی بادهای متصل به ذرات کلونیدی طلا متوقف شده در خط تست را اشباع نمی‌کنند.در نتیجه ذرات پوشیده از انتی بادی با امفتامین کنزومه شده جفت می‌شوند و یک خط رنگی قابل رویت در منطقه تست ایجاد می‌کنند.

در صورتی که سطح امفتامین بیشتر یا مساوی ۵۰۰ ng/ml باشد، خط رنگی در ناحیه تست ایجاد نخواهد شد. زیرا تمام گیرنده‌های انتی بادهای ضد امفتامین را اشباع خواهد کرد.

یک نمونه ادرار مثبت هیچ خط رنگی در منطقه تست ، T ایجاد نخواهد کرد(به دلیل خاصیت رقابتی مواد) در حالیکه یک نمونه ادرار منفی خط رنگی در منطقه تست ایجاد می‌کند(عدم وجود رقابت) ، به عنوان کنترل برای تعیین صحت این آزمایش همیشه یک خط رنگی در ناحیه مشخص شده با حرف C ظاهر می‌شود که بیانگر اضافه شدن مقدار کافی نمونه می‌باشد.

## مواد واکنش دهنده

نوار تست حاوی ذرات متصل به انتی بادی مونوکلونال ضد مت امفتامین و مت امفتامین کنزومه شده است. از انتی بادی ثانویه تهیه شده در گونه بز برای خط کنترل در تست استفاده شده است.

## احتیاط

✱ فقط برای تشخیص تخصصی در محیط خارج از بدن (in vitro) استفاده شود. پس از تاریخ انقضاء استفاده نشود.

✱ نوار تست تا هنگام مصرف باید در بسته بندی نگهداری شود.

✱ تمام نمونه‌ها باید عفونی در نظر گرفته شوند و کلیه اصول ایمن جهت جابجایی و استفاده از آنها رعایت شود.

✱ پس از مصرف به منظور از بین بردن توار تست باید در ظرف مواد با خطرات بیولوژیک قرار داده شود

## شرایط نگهداری

تاریخ انقضاء چاپ شده روی بسته بندی قابل استفاده می‌باشند و باید تا زمان مصرف در بسته بندی نگهداری شوند. از قرار دادن در دمای زیر صفر درجه سانتی گراد جلوگیری شود و پس از تاریخ انقضاء مصرف نشود.

## جمع آوری و آماده سازی نمونه

نمونه ادرار : نمونه باید در ظرف خشک و تمیز جمع آوری شود. نمونه ادرار در هر زمانی از روز می‌تواند جمع آوری شود و قابل آزمایش است. در صورت وجود ذرات معلق و قابل رویت در ادرار آن را باید سانتریفوژ یا با از صافی عبور داده شود یا اجازه داده شود تا ذرات کاملاً ته نشین شوند و از نمونه شفاف برای آزمایش استفاده نمود.

نگهداری نمونه : نمونه ادرار در دما ۸-۲۰ C به مدت ۴۸ ساعت قابل نگهداری می‌باشد. برای نگهداری طولانی مدت باید در دمای کمتر از ۲۰C- نگهداری شوند . نمونه یخ زده باید به طور کامل ذوب و مخلوط شود.

## محتویات

✱ نوار تست

✱ بروشور

## لوازم مورد نیاز

✱ ظرف حمل نمونه

✱ تایمر

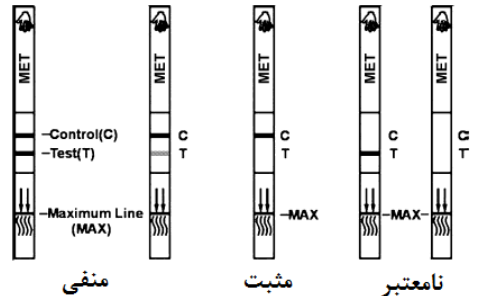
## راهنمای استفاده

قبل از انجام آزمایش اجازه دهید دمای نوار تست ، نمونه ادرار و یا / نمونه‌های کنترل به دمای اتاق (C ۳۰-۱۵ ) برسد.

۱- قبل از باز کردن پوشش اجازه دهید دمای نوار تست به دمای اتاق برسد . نوار تست را از داخل پوشش خارج نموده و در اسرع وقت استفاده کنید.

۲- نوار تست را از جهتی که فلشها نشان می‌دهند به طور عمودی تا خط ماگزیمم (MAX) وارد نمونه ادرار کنید و حداقل به مدت ۱۵- ۱۰ ثانیه نگه دارید( شکل ۱)

۳- نوار را روی یک سطح صاف و غیر جاذب قرار دهید و تایمر را روشن کنید . تا زمان ظاهر شدن خط یا خطوط رنگی صبر کنید. نتیجه باید ظرف ۵ دقیقه تفسیر شود. از تفسیر نتایج بعد از ۱۰ دقیقه اجتناب نمایید.



## تفسیر نتایج

**منفی** : نمایان شدن دو خط مجزا؛ یک خط باید در منطقه (C) و دیگری در منطقه تست (T) باشد. نتیجه منفی را نشان می‌دهد که سطح امفتامین کمتر از سطح قابل ردیابی ۵۰۰ng/ml است.

شدت رنگ در منطقه تست (T) با توجه به غلظت نمونه متفاوت است. بنابراین هاله‌ای از رنگ نیز در این منطقه باید منفی تلقی شود.

**مثبت** : نمایان شدن یک خط رنگی در منطقه کنترل (C) بدون ایجاد خط رنگی واضح در منطقه تست (T). نتیجه مثبت نشان می‌دهد که سطح امفتامین در ادرار بالاتر از سطح قابل ردیابی ۵۰۰ng/ml است.

**نامعتبر** : عدم ظهور خط کنترل (C) . حجم کم نمونه یا بکارگیری از روش اجرای نادرست آزمایش از علل مهم عدم ظهور خط کنترل می‌باشند. مراحل کار را مجدداً بازبینی نموده و تست را با نوار جدید تکرار کنید. در صورت عدم رفع مشکل ، استفاده از کیتها را متوقف نموده و بلافاصله به نمایندگی اطلاع دهید.

مینیمم تشخیصی و ۵۰٪ بالا و پایین حد مینیمم تشخیص ۱۰۰۰ mg/ml در هر مرکز استفاده شد.

غلظت مت امفتامین ng/ml	تعداد	جایگاه A		جایگاه B		جایگاه C	
		-	+	-	+	-	+
		0	15	15	0	15	0
250	15	15	0	14	1	13	2
500	15	11	4	10	5	10	5
625	15	8	7	4	11	6	9
750	15	1	14	1	14	0	15

### اثر وزن مخصوص ادرار

به ۱۵ نمونه ادرار با وزن مخصوص ۱/۰۰۱ تا ۱/۰۲۲ مت امفتامین با غلظتهای ۱۵۰۰ ng/ml و ۵۰۰ ng/ml اضافه شد. سپس نمونه‌های خالص و نمونه‌های با غلظت مشخص مت امفتامین توسط تست مت امفتامین بررسی شدند. نتایج نشان دادند که در محدوده تست شده وزن مخصوص اثری بر نتیجه آزمایش ندارند.

### اثر pH

pH به نمونه منفی ادرار از 1 تا ۹ تغییر داده شد و به نمونه‌ها غلظتهای ۷۵۰ ng/ml و ۲۵۰ ng/ml از 2.۵ مت امفتامین اضافه شد. سپس نمونه‌های خالص با pH متغییر و نمونه‌های با pH متغییر و غلظت مت امفتامین مشخص، با تست مت امفتامین بررسی شدند. نتایج نشان دادند که pH ادرار اثری بر نتیجه آزمایش ندارد.

### ترکیبات بدون تداخل

مطالعاتی جهت بررسی تداخلات با نمونه‌های منفی و مثبت مت امفتامین انجام شد. ترکیبات زیر تداخلی با نتایج تست مت امفتامین در غلظت ۱۰۰ µg/ml ندارند.

4-Acetamidophenol	Erythromycin	Panaverine
Acetophenetidin	β-Estradiol	Penicillin-G
N-Acetylprocainamide	Estrone-3-sulfate	Pentobarbital
Acetylsalicylic acid	Ethyl-p-aminobenzoate	Perphenazine
Aminovrine	Fenfluramine	Phencyclidine
Amitriptyline	Fenpropfen	Phenelzine
Amobarbital	Furosemide	Phenobarbital
Amoxicillin	Gentisic acid	Phentermine
Ampicillin	Hemoglobin	L-Phenylephrine
Ascorbic acid	Hydralazine	β-Phenylethylamine
D-Amphetamine	Hydrochlorothiazide	Phenylpropanolamine

#### Index of Symbols

	قبل از انجام آزمایش، برگه راهنما را به دقت بخوانید		تعداد تست در هر بسته		آدرس کارخانه
	استفاده تشخیصی در خارج از بدن انسان		تاریخ انقضا		بکار مصرف
	در دمای 2-30 درجه سانتیگراد نگهداری کنید		شماره سری تولید		

کیلومتر ۵ بزرگراه کرج- قزوین شهرک صنعتی بهارستان گلستان چهارم پلاک 40



روش	GC/MS		نتایج
	مثبت	منفی	
تست نواری	نتایج	۱۰	۱۴۵
مت امفتامین	مثبت	۱۳۵	۱۵۵
روژان	منفی	۱	۳۰۰
نتایج کلی	۱۳۶	۱۶۴	۷۹۶٪
درصد موفقیت	۷۹۹٪	۷۹۴٪	

### حساسیت

به یک نمونه ادرار بدون دارو، غلظتهای زیر از مت امفتامین اضافه شد: ۰ ng/ml، ۲۵۰ ng/ml، ۳۷۵ ng/ml، ۵۰۰ ng/ml، ۶۲۵ ng/ml، ۷۵۰ ng/ml. نتایج صحت < ۹۹٪ در ۵۰٪ نمونه‌های با غلظت بالاتر از حد مینیمم و ۵۰٪ با غلظت پایین تر از حد مینیمم را نشان دادند.

غلظت مت امفتامین ng/ml	درصد تشخیص	تعداد		
			مثبت	منفی
0	0	30	30	0
250	-50%	30	30	0
375	-25%	30	30	0
500	حد مرزی	30	18	12
625	25%	30	1	29
750	50%	30	0	30

### ویژگی

لیست زیر شامل موادی است که در تست مت امفتامین طی ۵ دقیقه نتیجه مثبت ایجاد می‌کنند.

Compound	Concentration (ng/mL)
p-Hydroxymethamphetamine	15,000
D-Methamphetamine	500
L-Methamphetamine	4,000
(±)-3,4-Methylenedioxymethamphetamine	1,000
Mephentermine	25,000
Chloroquine	12,500

### دقت

یک مطالعه در سه آزمایشگاه جداگانه با نیروهای آموزش ندیده و استفاده از ۳ سری تست با شماره ساخت (lot number) متفاوت، جهت ارزیابی داخل مرحله‌ای، بین مرحله‌ای و بین فردی طراحی شد. یک پتل از نمونه‌های کد دار یکسان حاوی غلظت مت مت امفتامین معین بر اساس روش GC/MS در حد ۰ ng/ml، ۲۵٪ بالا و پایین حد

### کنترل کیفی

کنترل روش کار در داخل تست گنجانده شده است. خط رنگی که در منطقه کنترل (C) ایجاد میشود در واقع همان کنترل داخلی روش مورد استفاده است و حجم کافی نمونه و روش صحیح کار را تأیید می‌کند.

کنترل‌های استاندارد به همراه کیت فراهم نشده‌اند. با این حال توصیه می‌شود جهت تأیید تست و مراحل انجام آن یک کنترل مثبت و یک کنترل منفی انجام شود.

### محدودیتها

۱- این تست فقط یک نتیجه کیفی و ابتدایی را فراهم می‌کند. یک روش بررسی ثانویه برای تشخیص قطعی ضروری است. روش کروماتوگرافی گازی/به همراه اسپکتروسکوپی جرمی (GC/MS) تست ارجح تأییدی است.

۲- امکان دارد که روش نادرست کار یا اشتباه تکنیکی، همانند وجود مواد تداخل کننده در نمونه ادرار منجر به نتیجه کاذب شوند.

۳- تقلب، مانند افزودن مواد سفید کننده یا زاج سفید به نمونه ادرار ممکن است منجر به نتایج کاذب، صرف نظر از روشهای استفاده شده گردد، در صورت شک به تقلب، باید تست با نمونه ادرار جدید تکرار شود.

۴- نتیجه مثبت بیانگر وجود دارو یا متابولیت‌های آن می‌باشد. اما مسمومیت، روش مصرف یا غلظت ادراری آن را نشان نمی‌دهد.

۵- نتیجه منفی الزاماً بیانگر عدم وجود دارو در ادرار نیست. ممکن است سطح دارو کمتر از سطح قابل ردیابی توسط تست باشد.

۶- تست قادر به افتراق سوء مصرف از موارد مصرف درمانی نمی‌باشد

### خصوصیات آماری

صحت: یک روش مقایسه‌ای سه مرحله‌ای با استفاده از این تست و تست سریع تجاری رایج مت امفتامین در دسترس انجام شد. تست روی ۳۰۰ نمونه انجام شد. درصد غلظت نمونه‌های به کار رفته ۲۵٪ - و ۲۵٪+ حد مینیمم (cut-off) غلظت ۵۰۰ ng/ml مت امفتامین بودند. سپس نتایج مثبت با GC/MS تأیید شدند که نتایج زیر به دست آمد.

نتایج	یک تست مت امفتامین دیگر		
	مثبت	مثبت	منفی
145	0	145	تست نواری مت امفتامین
155	152	3	روژان
300	152	148	نتایج کلی
99٪	100٪	98٪	درصد موفقیت

جدول مقایسه تست در غلظت ۱۰۰۰ ng/ml با GC/MS

Formatted: Font: (Default) Times New Roman, 8.5 pt, Font color: Black, Complex Script Font: B Nazanin, 8.5 pt