

تست سریع امفتامین روزان

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

کاربرد

این تست یک روش ایمنوواسی کروماتوگرافیک برای تشخیص 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

امفتامین از جمله داروهای محرک عصبی است که جزء خانواده فنیل اتیل امین ها می‌باشند. نظر شیمیایی به کنتول آمین‌ها (پی نفرین و نوراپی نفرین) شباهت دارند استفاده از این دارو در دوز بالا منجر به تحریک سیستم اعصاب مرکزی شده که آثاری چون: بی خوابی ، تحریک پذیری ، کاهش اشتها و احساس افزایش انرژی را در پی دارد . پاسخ سیستم قلبی و عروقی به مصرف امفتامین شامل : افزایش ضربان قلب و فشار خون می‌باشد . دیگر عوارض ناشی از مصرف امفتامین شامل: توهم ، پارونیا، افزایش حس خشونت ، خشکی دهان سر درد و سرگیجه می‌باشد. اثر امفتامین به صورت معمول ۲ تا ۴ ساعت بعد از مصرف بوده و نیمه عمر این دارو در بدن ۲۴ – ۴ ساعت می‌باشد.حدود۳۰٪ امفتامین مصرفی به صورت تغییر نیافته از ادرار دفع شده و باقی آن به صورت هیدروکسیله شده و دیگر مشتقات از طریق ادرار از بدن خارج می‌شود. تست یک مرحله امفتامین ، یک تست سریع غربال گری ادراری است که نیاز به تجهیزات پیچیده‌ای ندارد. در این تست از آنتی بادی متوکلونال که به طور اختصاصی میزان افزایش یافته امفتامین در ادرار را تشخیص می‌دهد استفاده شده است. در این تست نتیجه زمانی مثبت می‌شود که غلظت امفتامین در ادرار بیش از ۵۰۰ng/ml باشد .

فرآیند

این تست ، یک روش ایمنوواسی 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، آنتی بادهای متصل به ذرات کلونیدی طلا متوقف شده در خط تست را اشباع نمی‌کند.در نتیجه ذرات پوشیده از آنتی بادی با امفتامین کنزوگه 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 آنتی 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 آنتی بادی مونوکلونال ضد امفتامین و امفتامین کنزوگه شده است. از آنتی 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

کیتها بسته بندی شده در دمای اتاق یا یخچال (C° ۲-۳۰) قابل نگهداری هستند . 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 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 C° ۲-۸ به مدت ۴۸ ساعت قابل نگهداری می‌باشد. برای نگهداری طولانی مدت باید در دمای کمتر از C° ۲۰- نگهداری شوند . نمونه یخ زده باید به طور کامل ذوب و مخلوط شود

محتویات

✱ نوار تست

✱ بروشور

لوازم مورد نیاز

✱ ظرف حمل نمونه

✱ تایمر

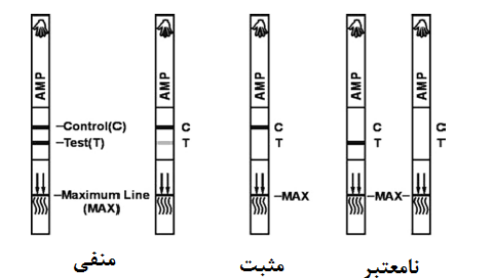
راهنمای استفاده

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

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 جذب 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 ۵۰۰ ng/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.

نا معتبر : عدم ظهور خط کنترل (C) . حجم کم نمونه یا بکلاری از روش اجرای نادرست آزمایش از علل مهم عدم ظهور خط کنترل می‌باشند. مراحل کار را مجدداً

ROJAN®

غلظت امفتامین (ng/ml)	تعداد	جایگاه A		جایگاه B		جایگاه C	
		-	+	-	+	-	+
۰	۱۵	۱۵	۰	۱۵	۰	۱۵	۰
۲۵۰	۱۵	۱۵	۰	۱۵	۰	۱۴	۱
۵۰۰	۱۵	۲	۱۳	۴	۱۱	۴	۱۱
۱۵۰۰	۱۵	۲	۱۳	۱	۱۴	۱	۱۴

اثر وزن مخصوص ادرار

به ۱۵ نمونه ادرار با وزن مخصوص ۱/۰۰۱ تا ۱/۰۳۲ امفتامین با غلظتهای ۱۵۰۰ ng/ml و ۵۰۰ ng/ml اضافه شد. سپس نمونه‌های خالص و نمونه‌های با غلظت مشخص امفتامین توسط تست امفتامین بررسی شدند. نتایج نشان دادند که در محدوده تست شده وزن مخصوص اثری بر نتیجه آزمایش ندارد.

اثر pH

pH نمونه منفی ادرار از ۵ تا ۹ تغییر داده شد و به نمونه‌ها غلظتهای ۱۵۰۰ ng/ml و ۵۰۰ ng/ml امفتامین اضافه شد. سپس نمونه‌های خالص با pH متغییر و نمونه‌های با pH متغییر و غلظت امفتامین مشخص، با تست امفتامین بررسی شدند. نتایج نشان دادند که PH ادرار اثری بر نتیجه آزمایش ندارد.

ترکیبات بدون تداخل

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

4-Acetamidophenol	Estrone-3-sulfate	Oxolinic acid
Acetophenetidin	Ethyl-p-Fenfluramine	Oxycodone
N-Acetylsalicilic acid	Fenoprofen	Oxymetazoline
Aminopyrine	Furosemide	Panaverine
Amitrvotiline	Gentisic acid	Penicillin-G
Amobarbital	Hemoglobin	Pentazocine
Amoxicillin	Hvdralazine	Pentobarbital
Amicillin	Hydrochlorothiazide	Perphenazine
Ascorbic acid	Hydrocodone	Phencvclidine
Apomorphine	Hydrocortisone	Phenelzine
	Phenobarbital	

Index of Symbols		
	فیل از بنام آزمایش، برگه را لطفاً را به دقت بخوانید	
	استفاده تخصصی در خارج از چن نشان	
	در دمای ۲-۳۰ درجه سانتیگراد نگهداری کنید	



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

نتایج	GC/MS		روش
	منفی	مثبت	
۱۴۱	۹	۱۳۲	تست نواری
۱۵۹	۱۵۵	۴	امفتامین روزان
۳۰۰	۱۶۴	۱۳۶	نتایج کلی
٪۹۶	٪۹۵	٪۹۷	درصد موفقیت

حساسیت

به یک نمونه ادرار بدون دارو، غلظتهای زیر از امفتامین اضافه شد: ۱۵۰۰ ng/ml، ۱۰۰۰ ng/ml، ۱۵۰۰ ng/ml، ۵۰۰ ng/ml، ۵۰۰ ng/ml. نتایج صحت < ۹۹٪ در ۵۰٪ نمونه‌های با غلظت بالاتر از حد مینیمم و ۵۰٪ با غلظت پایین تر از حد مینیمم.

غلظت امفتامین (ng/ml)	درصد تشخیص	تعداد	
		مثبت	منفی
۰	٪۰	۳۰	۳۰
۲۵۰	٪-۵۰	۳۰	۳۰
۵۰۰	حد مرزی	۳۰	۱۲
۱۰۰۰	٪۲۵	۳۰	۲
۱۵۰۰	٪+۵۰	۳۰	۰

ویژگی

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

Compound	Concentration (ng/mL)
D-hetamine	500
D,L-Amphetamine sulfate	1,500
(±) 3,4-Methylenedioxyamphetamine	800
Phentermine	1,500
β-Phenylethylamine	50,000
Tryptamine	50,000
Tyramine	25,000

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 پنل از نمونه‌های کد دار یکسان حاوی غلظت مت امفتامین معین بر اساس روش GC/MS در حد ۰ ng/ml، ۲۵٪ بالا و پایین حد مینیمم تشخیص و ۵۰٪ بالا و پایین حد مینیمم تشخیص ۵۰۰ mg/ml در هر مرکز استفاده شد.

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.

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- قلب، 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 قلب، 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 امفتامین در دسترس انجام شد. تست روی ۳۰۰ نمونه انجام شد. درصد غلظت نمونه‌های به کار رفته ۲۵٪ - و ۲۵٪+ حد مینیمم (حد مرزی) غلظت ۵۰۰ ng/ml امفتامین بودند. سپس نتایج مثبت با GC/MS تأیید شدند که نتایج زیر به دست آمد.

نتایج	یک تست امفتامین دیگر		روش
	منفی	مثبت	
۱۴۵	۰	۱۴۱	تست نواری
۱۵۵	۱۵۲	۵	امفتامین روزان
۳۰۰	۱۵۲	۱۴۶	نتایج کلی
٪۹۸	٪۱۰۰	٪۹۷	درصد موفقیت

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

Formatted: Font: (Default) +Headings CS (Times New Roman), 7 pt, Font color: Black, Complex Script Font: B Nazanin, 7 pt