

تست سریع ضد افسردگی‌های سه حلقه‌ای روزان

تست سریع و یک مرحله‌ای برای تشخیص کیفی ضد افسردگی‌های سه حلقه-ای(Tricyclic Anlidepressants) در نمونه ادرار انسانی جهت تشخیص در محیط خارج از بدن (in vitro)

کاربرد

این تست یک روش ایمنونواسی کروماتوگرافیک برای تشخیص ضد افسردگی‌های سه حلقه-ای در ادرار با غلظت پایین در حد ng/ml ۱۰۰۰ 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

ضد افسردگی های سه حلقه ایی (TCA) معمولاً برای درمان اختلالات افسردگی استفاده می شود . تنها کاربرد تأیید شده از طرف FDA برای این داروها درمان اختلالات افسردگی مازور است به جز کلومیپرامین که در اختلال وسواس جبری نیز کاربرد دارد. عمل اصلی داروهای این گروه در مغز مهار باز جذب سروتونین و نوراپی نفرین با بلوک نمودن عملکرد انتقال دهنده‌های سروتونین و نوراپی نفرین است. لذا موجب افزایش سطح مغزی سروتونین و نوراپی نفرین می‌شود. این داروها به صورت تزریقی یا خوراکی استفاده می-شوند. ضد افسردگی های سه حلقه ایی در کبد متابولیزه می‌شود. ضد افسردگی های سه حلقه ایی و مشتقات متابولیزه شده آن طی ده روز در ادرار ترشح می‌شوند.

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 نیترو سلولز تثبیت شده برای اتصال به انتی بادی رقابت می‌کنند. در طی انجام آزمایش نمونه ادرار بر اساس خاصیت موبینگی به سمت بالا حرکت می‌کند. اگر ضد افسردگی های سه حلقه ایی در سطوح کمتر از ng/ml ۱۰۰۰ در ادرار وجود داشته باشد، آنتی بادیهایی متصل به ذرات کلوئیدی طلا متوقف شده در خط تست را اشباع نمی‌کنند.در نتیجه ذرات پوشیده از آنتی بادی با ضد افسردگی های سه حلقه ایی کنژوگه شده جفت می‌شوند و یک خط رنگی قابل رویت در منطقه تست ایجاد می‌کنند. در صورتی که سطح ضد افسردگی های سه حلقه ایی بیشتر یا مساوی ng/ml ۱۰۰۰ باشد، خط رنگی در ناحیه تست ایجاد نخواهد شد. زیرا تمام گیرنده‌های آنتی بادیهایی ضد ضد افسردگی های سه حلقه ایی 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 می-کند.(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 علیه ، ضد افسردگی‌های سه حلقه-ای و ضد افسردگی‌های سه حلقه‌ایی کنژوگه 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 از بین بردن نوار تست باید در ظرف مواد با خطرات بیولوژیک قرار داده شود.

شرایط نگهداری

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

محتویات

* نوار تست

* بروشور

لوازم مورد نیاز

* ظرف حمل نمونه

* تایمر

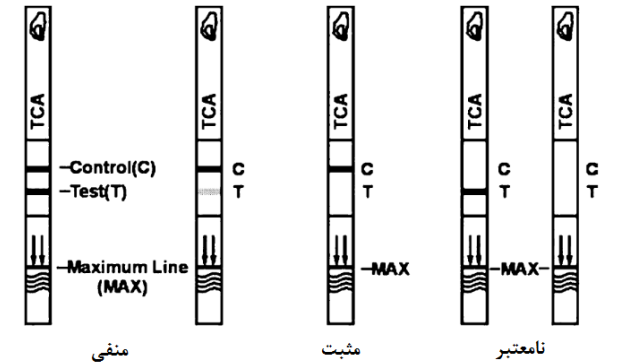
راهنمای استفاده

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 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 نشان می‌دهد که سطح ضد افسردگی‌های سه حلقه-ای کمیتر از سطح قابل ردیابی mg/ml ۱۰۰۰ 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 ضد افسردگی‌های سه حلقه-ای در ادرار بالاتر از سطح قابل ردیابی ng/ml ۱۰۰۰ است.

نا معتبر : 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.

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. 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 ، 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 ضد افسردگی‌های سه حلقه‌ای^۱ در دسترس انجام شد. تست روی ۲۲۲ نمونه انجام شد . درصد غلظت نمونه‌های به کار رفته ۲۵ - $\%$ و ۲۵ $\pm$ ٪ حد مینیمم (حدمرز) غلظت ng/ml ۱۰۰۰ ضد افسردگی های سه حلقه ایی بودند. سپس نتایج مثبت با GC/MS تأیید شدند که نتایج زیر به دست آمد.

نتایج	یک تست نواری ضد افسردگی های سه حلقه‌ای دیگر		روش	
	منفی	مثبت	نتایج	تست نواری ضد افسردگی های سه حلقه ایی روزان
۵۵	۰	۵۵	مثبت	افسردگی های سه حلقه ایی
۱۶۷	۱۶۴	۳	منفی	روزان
۲۲۲	۱۶۴	۵۸	نتایج کلی	
٪۹۹	۹۹٪	۹۵٪	درصد موفقیت	

جدول مقایسه تست در غلظت ng/ml ۱۰۰۰ با HPLC

درصد موفقیت	٪۲۵+	حدمرزى	حدمرزى تا حدمرزى	٪۲۵- حدمرزى	داروى آزاد در ادرار	تست نواری ضد افسردگی های سه حلقه ایی روزان
٪۸۹	۰	۰	۰	۱۷	۱۵۰	منفی
٪۹۹	۳۰	۱۵	۸	۱۲	۰	مثبت

حساسیت

به یک نمونه ادرار بدون دارو ، غلظتهای زیر از ضد افسردگی های سه حلقه ای اضافه شد: ng/ml ۰ ، ng/ml 500 ، ng/ml 750 ، ng/ml 1000 ، ng/ml 1250 ، ng/ml 1500 .

نتایج صحت < ۹۹٪ در ۵۰٪ نمونه‌های با غلظت بالاتر از حد مینیمم و ۵۰٪ با غلظت پایین تر از حد مینیمم را نشان دادند

مثبت	منفی	تعداد	درصد تشخیص	غلظت ضد افسردگی های سه حلقه ایی (ng/ml)
0	30	۳۰	۰	0
0	30	۳۰	٪-۵۰	500
8	22	۳۰	٪-۲۵	750
18	12	۳۰	حدمرزى	1000
23	7	۳۰	٪+۲۵	1250
30	0	۳۰	٪+ ۵۰	1500

ویژگی

لیست زیر شامل موادی است که در تست ضد افسردگی های سه حلقه ایی طی ۵ دقیقه نتیجه مثبت ایجاد می‌کنند.

concentration(ng/ml)	Compound
1000	Notriptyline
1000	Nordoxepine
3000	Trimipramine
1500	Amitriptyline
1500	Promazine
200	Desipamine
400	Inipramine
12500	Clomipramine
2000	Doxepine
2000	Maprotiline
2500	Promethazine

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 مورفین معین بر اساس روش GC/MS در حد ng/ml ۰ ۲۵۰٪ بالا و پایین حد مینیمم تشخیص و mg/ml ۱۰۰۰ در هر مرکز استفاده شد.

غلظت ضد افسردگی های سه حلقه ایی (ng/ml)	تعداد	جایگاه A		جایگاه B		جایگاه C	
		-	+	-	+	-	+
0	15	15	0	15	0	15	0
500	15	15	0	15	0	15	0
750	15	14	1	11	4	14	1
1000	15	8	7	2	13	6	9
1500	15	1	14	0	15	1	14

اثر وزن مخصوص ادرار

به ۱۵ نمونه ادرار با وزن مخصوص ۱/۰۰۱ تا ۱/۰۳۲ ضد افسردگی های سه حلقه ایی با غلظتهای ng/ml ۱۵۰0 و ng/ml 500 اضافه شد. سپس نمونه‌های خالص و نمونه‌های با غلظت مشخص ضد افسردگی های سه حلقه ایی توسط تست ضد افسردگی های سه

حلقه ایی 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 ۵ تا ۹ تغییر داده شد و به نمونه ها غلظتهای ng/ml ۱۵۰0 و ng/ml 500 از ضد افسردگی‌های سه حلقه‌ای^۱ی اضافه شد. سپس نمونه های خالص با pH متغییر و نمونه‌های با pH متغییر و غلظت ضد افسردگی‌های سه حلقه‌ای^۱ی مشخص ، با تست ضد افسردگی‌های سه حلقه‌ای^۱ی 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 ضد افسردگی‌های سه حلقه‌ای^۱ی انجام شد. ترکیبات زیر تداخلی با نتایج تست ضد افسردگی‌های سه حلقه‌ای^۱ی در غلظت µg/ml ۱۰۰ ندارند.

4-Acetamidophenol	Estrone-3-sulfate	Oxolinic acid
Acetophenetidin	Ethyl-p-aminobenzoate	Oxycodone
N-Acetylprocainamide	Fenoprofen	Oxymetazoline
Acetylsalicylic acid	Furosemide	Papaverine
Aminopyrine	Gentisic acid	Penicillin-G
Amobarbital	Hemoglobin	Pentazocine hydrochloride
Amoxicillin	Hydralazine	Pentobarbital
Ampicillin	Hydrochlorothiazide	Perphenazine
L-ascorbic acid	Hydrocodone	Phencyclidine
DL-Amphetamine sulfate	Hydrocortisone	Phenelzine
Apomorphine	O-Hydroxyhippuric acid	Phenobarbital
Aspartame	p-Hydroxy-amphetamine	Phentermine
Atropine	p-Hydroxy-methamphetamine	Trans-2-phenylcyclopropylamine - hydrochloride
Benzilic acid	3-Hydroxytyramine	L-Phenylephrine
Benzoic acid	Ibuprofen	β-Phenylethlamine
Benzoylcgonine	lproniazid	Phenylpropanolamine
Benzphetamine	(±) - Isoprotenerol	Prednisolone
Bilirubin	Isoxsuprine	Procaine
Caffeine	Ketoprofen	Promethazine
Cannabidiol	Labetalol	DL-Propanolol
Cannabinol	Loperamide	D-Propoxyphene
Chloralhydrate	MDE	D-Pseudoephedrine
Chloramphenicol	Meperidine	Quinacrine
Chlorothiazide	Meprobamate	

Index of Symbols

	قبل از انجام آزمایشان، برگه راهنما را به دقت بخوانید
	استفاده تشخیصی در خارج از بدن انسان
	در دمای 2-30 درجه سانتیگراد نگهداری کنید

	تعداد تست در هر بسته
	تاریخ انقضا
	شماره سری تولید

	آدرس کارخانه
	بیکار مصرف



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