

معرف تشخیصی سوء مصرف دارو و مواد مخدر (LLE)

شماره کاتالوگ TLC-LLE-52131

جهت تشخیص انواع مواد مخدر (مرفین، کدین، آمفتامین، مت آمفتامین، متادون، اکستازی، ترامادول، بوپرونورفین) در نمونه‌های ادرار انسانی به روش کروماتوگرافی لایه نازک

هدف از استفاده

هدف از طراحی کیت حاضر دستیابی به یک کیت کامل تشخیصی خارج از بدن انسان، جهت جداسازی و تشخیص انواع مواد مخدر به طور همزمان در نمونه ادرار افراد مشکوک به روش کروماتوگرافی لایه نازک است. حدمرزی (Cut off) قابل تشخیص برای مواد مورد با کیت مذکور عبارتند از:

| | |
|---|-----------|
| مورفین / کدین / متادون / بوپرونورفین / ترامادول | 300 ng/ml |
| آمفتامین / مت‌آمفتامین / اکستازی | 500 ng/ml |

شرایط نگهداری و پایداری تست

این فرآورده تا تاریخ یاد شده بر روی بسته بندی در دمای ۵ - ۲۵ درجه سانتی‌گراد پایدار است.

محتویات تست

۱ - پلیت لایه نازک ۵ عدد ۲ - لوله جداسازی ۲۰ عدد (۱۰۰×۱۶ میلی‌متر) ۳ - محلول استخراج به حجم ۷۰ میلی‌لیتر ۴ - محلول اکتیواتور به حجم ۲۰ میلی‌لیتر ۵ - فاز متحرک A1 به حجم ۹۰ میلی‌لیتر، A2 به حجم ۸/۵ میلی‌لیتر، A3 به حجم ۴/۵ میلی‌لیتر

لوازم مورد نیاز که در کیت تعبیه نشده

۱ - تانک کروماتوگرافی ۲ - هات پلیت ۳ - بشر انگشتی ۴ - لوله موئین ۵ - ترمومتر کالیبره ۶ - کرومومتر یا ساعت آزمایشگاهی ۷ - رنگ یدور پلاتینات ۸ - رنگ پاش مخصوص اسپری نمودن یدورپلاتینات ۹ - پیپت در حجمهای ۵ و ۱۰ سی سی ۱۰ - پوار لاستیکی

روشی انجام تست

مرحله اول (مهم): به منظور صرفه جویی در زمان ابتدا تانک استخراج آماده شود. زیرا تانک حداقل ۳۰ دقیقه زمان می برد تا اشباع شود.

الف - آماده سازی اولیه تانک استخراج (۲ دقیقه)

برای تهیه فاز متحرک داخل تانک مقدار ۱۷/۵ میلی لیتر از محلول A1 درون تانک ریخته شود. سپس ۱/۶ میلی لیتر از محلول A2 داخل تانک ریخته شود و بعد ۰/۸ میلی لیتر از محلول A3 به تانک اضافه کنید لطفا توجه شود با توجه به فرار بودن محلول درب سیل الومینیومی برداشته نشود و فقط به کمک سرنگ محلول برداشته شود.
* نکته: توجه نمایید که تانک کاملا تمیز باشد و درب آن کاملا بسته بماند.

ب - استخراج (۲۰ دقیقه)

۱ - پنج میلی لیتر از نمونه را به لوله جداسازی منتقل کرده و خوب مخلوط کنید تا پودر موجود در لوله کاملا در ادرار حل شود.

۲ - یک میلی لیتر محلول اکتیواتور (Activator buffer) را به لوله اضافه کنید.

۳ - سه و نیم میلی لیتر محلول استخراج (Extraction) به لوله اضافه کنید.

۴ - لازم است درب ویال کاملا بسته و با تکان دادن دست همزده شود تا رنگ محلول شیری رنگ شود. برای اینکه استخراج به خوبی انجام شود لوله به شدت با تکان دادن دست یا به کمک ورتکس به مدت ۳ دقیقه کاملا همزده شود.

۵ - مخلوط حاصل را به مدت پنج دقیقه با دور ۳۰۰۰ سانتریفیوژ نمایید.

۶ - بعد از سانتریفیوژ یک محلول دو فازی بدست می آید محلول شفاف رویی را با پیپت یا سمپلر برداشته و به داخل بشر کوچک انتقال دهید و در مقابل ششوار گرم یا بر روی هات پلیت به مدت ۱۵ دقیقه در محدوده دمایی ۵۰ تا ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک کنید. تبخیر حلال می بایست در زیر هود انجام شود.

* نکته: حتما دقت شود ۶ قطره نمونه ته بشر بماند و تمام نمونه کاملا خشک نشود.

* نکته: دمای هات پلیت از ۷۰ درجه بالاتر نرود زیرا سبب تجزیه شدن مواد می شود.

* نکته: برای تبخیر حلال می توان از ششوار هم استفاده کرد. برای استفاده از ششوار خیلی باید دقت شود که بشر به خوبی در مکانی ثابت شود (داخل جعبه کوچک) و حلال کاملا تبخیر نشود. حدودا این مرحله ۱۰ دقیقه زمان می برد.

ج - آماده سازی صفحه TLC و لکه گذاری (۲۰ دقیقه)

۱ - صفحه کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) را آماده کنید. (در فاصله حدود یک و نیم سانتی متری از پایین با مداد معمولی مسیر لکه گذاری را به آرامی خط کشی نمایید. مراقب باشید سیلیکاژل سطح صفحه TLC خراشیده نشود.)

* نکته: حتما از مداد معمولی استفاده شود تا صفحه TLC خراشیده نشود.

۲ - قبل از انجام لکه گذاری بایستی صفحه TLC به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۵۰ تا ۶۰ درجه سانتیگراد فعال شود. برای این منظور از هات پلیت و یا ششوار استفاده نمایید.

* نکته: دمای هات پلیت از ۷۰ درجه بالاتر نرود زیرا سبب خمیده شدن صفحه TLC شده و در نتایج تاثیر می‌گذارد.

۳ - به بشرهای محتوی حاصل استخراج ۴ قطره متانول اضافه نمایید و به خوبی با همان بشر تکان دهید تا محتوی بشر کاملا در متانول حل شود. هنگام ریختن متانول لوله موئین داخل بشر نباشد.

۴ - محلول به دست آمده را با لوله موئین با دقت در مسیر خط کشی شده لکه گذاری نمایید. توجه نمایید که لکه ها کوچک بوده و صفحه TLC خراشیده نشود.

* نکته: لکه گذاری روی هات پلیت انجام شود.

* نکته: حدودا ۱۲ پاف از نمونه لکه گذاری شود. به این ترتیب که ابتدا توسط لوله موئین یک لکه گذاشته چند ثانیه صبر کرده تا خشک شود سپس دوباره لکه دیگر را قرار داده شود. تمامی محتویات بشر را با حوصله لکه گذاری کنید

۵ - محلول استاندارد مواد مخدر با غلظت مشخص را نیز در یک طرف صفحه TLC با دقت لکه گذاری نمایید.

* نکته: بسته به اینکه محلول استاندارد از چه شرکتی تهیه شده است به میزان مشخص شده لکه گذاری شود. اگر از استاندارد شرکت بهار زیست تهیه شده به میزان ۳ پاف استاندارد ماده مخدر قرار داده شود.

۶ - صفحه TLC لکه گذاری شده را به مدت ۱ دقیقه در جای ثابتی افقی قرار داده تا کاملا خشک شود. از قرار دادن پلیت گرم داخل تانک خودداری شود.

د - قرار دادن صفحات TLC در داخل تانک استخراج و حرکت فاز متحرک (۲۰ دقیقه)

۱ - تانک TLC که در مرحله الف تهیه شده تا الان بعد از گذشت حدود ۴۵ دقیقه دقیقه اشباع شده است.

۲ - صفحه TLC را که لکه گذاری شده درون تانک (تهیه شده در قسمت الف) قرار دهید. پس از رسیدن فاز متحرک به انتهای صفحه TLC آن را خارج کنید این مرحله حدود ۲۰ دقیقه به طول می‌انجامد.

* نکته: جهت بدست آوردن باندهای واضح و جدایی کامل باندها درب تانک کروماتوگرافی را با وازلین آغشته کرده و کاملا مسدود کنید.

۳- پلیت را به مدت ۲ دقیقه زیر هود ویا در دمای ۴۰ تا ۵۰ درجه سانتیگراد قرار دهید تا فاز متحرک سطح آن کاملا تبخیر و خشک شود. میتوانید با ششوار این روند را راحتتر انجام دهید.

بهارزیست آزما پژوه

واحد پشتیبانی و خدمات پس از فروش ۰۲۱-۶۶۵۹۱۱۸۵

کارخانه: تهران، شهرک صنعتی شمس آباد، بلوار بهارستان، بلوار

نخلستان، گلشید ۳ پلاک ۹ تلفن: ۰۲۱-۵۶۲۳۳۵۲۷

www.barzist.com

ه- آشکارسازی (۵ دقیقه)

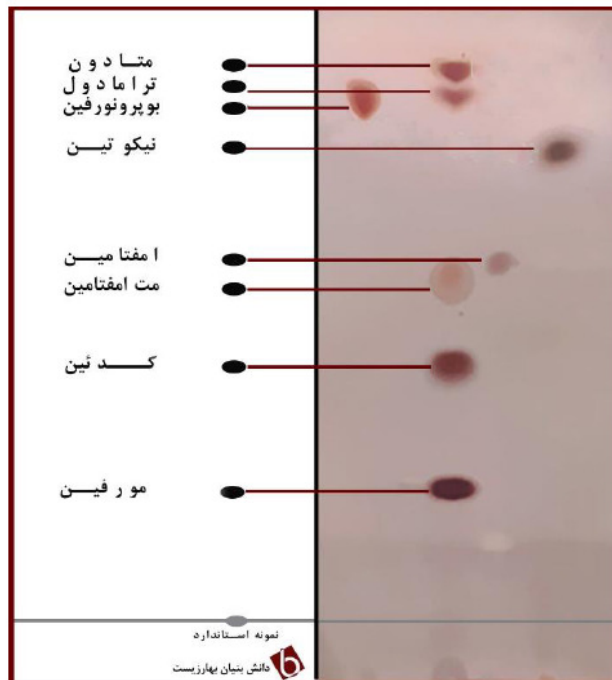
پس از خشک شدن کامل صفحه آن را با معرف یدور پلاتینات اسپری نموده و سپس باندهای ایجاد شده در نمونه‌ها را با باند ایجاد شده در استاندارد مقایسه نمایید. معمولا باندها بلافاصله ظاهر می‌شوند ولی ترجیحا تا خشک شدن سطح پلیت صبر کنید. برای آشکار شدن لکه های مرفین-کدئین بهتر است پلیت را پس از رنگ آمیزی و مشاهده لکه های آمفتامین و مت‌آمفتامین، به آرامی روی صفحه گرم با دمای 60 درجه سانتیگراد ویا با ششوار به مدت ۵ دقیقه قرار دهید و سپس صفحه TLC را در فضای آزمایشگاه خنک کنید (این عمل ۲ تا ۳ دقیقه به طول می‌انجامد). پلیت را دوباره با معرف یدور پلاتینات اسپری نموده و سپس باندهای ایجاد شده مرفین-کدئین در نمونه‌ها را با باند ایجاد شده در استاندارد مقایسه نمایید.

*نکته: جهت بدست آوردن باندهای واضح بهتر است پس از خروج صفحه TLC از تانک به صورت افقی (نه عمودی) در جایی ساکن قرار داده شود تا

تبخیر حلال به خوبی انجام شود.

و- تفسیر نتایج آزمایش و باندهای ظاهر شده

شکل زیر باندهای ظاهر شده پس از رنگ‌آمیزی پلیت TLC با نمونه های استاندارد در محدوده بالاتر از کات آف تست را نشان می‌دهد که نشان دهنده محل قرار گیری لکه‌های هر یک از آنالیت‌های هدف و همچنین رنگ ناشی از هریک از آنها پس از رنگ‌آمیزی با محلول معرف می‌باشد. ترتیب ظاهر شدن لکه ها که در مقابل استاندارد آن بایستی تشکیل شده باشند در زیر نشان داده شده است. در ادراها (نمونه های مختلف) ممکن است باندهای دیگری به غیر از آنالیت های هدف پدیدار شوند که به جهت عدم یکسان بودن با استاندارد قابل بررسی و توجه نیستند.



علائم راهنما

| | | |
|---------------------|-----|---|
| محل ساخت | IVD | کیت تشخیصی |
| تاریخ مصرف | i | دفترچه راهنما |
| تاریخ تولید | 🔧 | نگهداری در دمای ۵ تا ۲۵ درجه سانتی گراد |
| کد محصول | LOT | شماره یک سری تولید |
| دو بار استفاده نشود | ⊗ | تعداد تست درون کیت |