

616,04566

8858

รายงานการวิจัย

เรื่อง ผลการรบกวนของยาอนุพันธ์ของยาบ้าต่อการตรวจวิเคราะห์ยาบ้าด้วย
หลักการทางอิมมูโน

Interfering Effect of Amphetamine Analogs on The Amphetamine
Immunoassay

ชื่อผู้วิจัย

ดร. วีรวรรณ เล็กสกุลไชย



กันยายน 2543

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจาก

งบประมาณเงินรายได้มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ปี 2542

147484

2 ส.ค. ๒๕๔๓

บทคัดย่อ

การตรวจวิเคราะห์ยาบ้าในปัสสาวะด้วยหลักการทางอิมมูโน อาจให้ผลบวกลวงจากผลของการใช้ยาอื่นๆ โดยเฉพาะยาอนุพันธ์ของยาบ้า ซึ่งมีโครงสร้างโมเลกุลคล้ายคลึงกับยาบ้า ผลบวกของยาเหล่านี้จำเป็นต้องทราบ เพื่อประโยชน์ในการแปลผลการตรวจและนำผลการตรวจไปใช้ทางกฎหมาย การตรวจยาบ้าด้วยน้ำยา Amphetamine Abuscreen ONLINE Roche Immunoassay ได้รับความประเมิณการเกิดผลบวกลวงจากอนุพันธ์ของยาบ้า ผลการศึกษาพบว่า น้ำยาชนิดนี้มีความจำเพาะสูงมากต่อ Amphetamine และ ให้ผลบวกลวงกับยาอนุพันธ์ชนิด 3,4-methylene dioxyamphetamine (MDA) แต่ไม่ให้ผลบวกกับยาบ้าชนิด Methamphetamine และไม่ให้ผลบวกกับยาอี หรือ 3,4-methylene dioxymethamphetamine (MDMA), 3,4-methylene dioxyethylamphetamine, และยาลดความอ้วนชนิด ethylamphetamine น้ำยาชนิดนี้จึงมีประโยชน์ในการตรวจหาการใช้ยาบ้าในท้องที่ที่ยาบ้าชนิด Amphetamine มีการใช้มากกว่ายาบ้าชนิด Methamphetamine และ ยาอี จึงมีประโยชน์อย่างจำกัด ห้องปฏิบัติการที่ใช้น้ำยาชนิดนี้อยู่ควรมีวิธีการตรวจอื่นที่สามารถตรวจหายาบ้าชนิด Methamphetamine และยาอี อยู่ด้วย หากว่ายาเหล่านี้ถูกคาดหวังว่าจะพบในกลุ่มประชากรของท้องถิ่นนั้นๆ

Abstract

Interfering of Amphetamine analogs could cause a false positive result in amphetamine immunoassay. The knowledge of this interference is necessary for valid interpretation especially when the result is used for a legal action. Amphetamine Roche Abuscreen ONLINE immunoassay was evaluated in this study for the possible interference of Amphetamine analogs. The results showed that this reagent kit was highly specific to Amphetamine and 3,4-methylene dioxymphetamine (MDA). Methamphetamine, the other kind of Ya Ba, did not cause positive results. Ya E or 3,4-methylene dioxymethamphetamine (MDMA), as well as 3,4-methylene dioxylethylamphetamine and ethylamphetamine (an anorexic drug) did not give positive results with this reagent kit. Thus, the Amphetamine Roche Abuscreen ONLINE immunoassay should be a specific test kit for screening amphetamine. In the area that methamphetamine and Ya E are highly suspected to be used, another kind of analysis should be available for detecting these drugs.

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่ให้เงินสนับสนุนการทำวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณบริษัท Roche Diagnostic (Thailand) ที่เชื้อเพื่อนำยาบางส่วน

ดร. วีรวรรณ เล็กสกุลไชย

บทที่ 1

บทนำ

ภูมิหลัง

ยาบ้า หรือ ยาม้า ในสังคมไทย หมายถึงยา Amphetamine และ Methamphetamine ที่มีฤทธิ์กระตุ้นประสาท ทำให้ไม่่วงและไม่อยากอาหาร จึงมีการนำมาใช้ในทางที่ผิด จนอาจเป็นอันตรายต่อผู้ใช้และต่อสังคม กฎหมายจึงห้ามไม่ให้มีการเสพยาบ้า และหากตรวจพบยาบ้าในปัสสาวะของผู้ใด ถือว่าผู้นั้นมีความผิดทางกฎหมาย หลักการตรวจหายาบ้าในปัสสาวะที่ใช้กันทั่วไปคือ หลักการทางอิมมูโน ปัญหาของการตรวจด้วยหลักการนี้คือ อาจเกิดผลบวกลวงจากยาชนิดอื่นๆ ที่ไม่ใช่ยาบ้า การเกิดผลบวกลวง หากเกิดจากยาอนุพันธ์ของยาบ้ามีโอกาสพบได้บ่อยเนื่องจากโครงสร้างโมเลกุลที่คล้ายยาบ้า ทำให้แอนติบอดีในน้ำยาไปจับและทำให้เกิดผลของปฏิกิริยาขึ้น ข้อดีของการเกิดผลบวกลวงจากยาอนุพันธ์ของยาบ้าคือ สามารถใช้ชุดตรวจนั้นในการตรวจหาการใช้ยาบ้าและยาอนุพันธ์ของยาบ้า โดยเฉพาะยาอี และ ยาลดความอ้วน ethylamphetamine ที่กำลังแพร่ระบาดเข้ามาในประเทศไทยและประเทศข้างเคียง

ความมุ่งหมายของการวิจัย

การวิจัยนี้ได้ทำขึ้นเพื่อศึกษาว่า ยาอนุพันธ์ของยาบ้าสามารถให้ผลบวกกับชุดน้ำยาตรวจยาบ้าที่มีขายในประเทศไทยหรือไม่ เพื่อให้เป็นข้อมูลประกอบการแปลผลและการนำผลการตรวจวิเคราะห์ไปใช้ให้เกิดประโยชน์ โดยเฉพาะ ให้เกิดความถูกต้องในการนำไปใช้หาผิดทางกฎหมาย

ความสำคัญของการวิจัย

เพื่อให้ทราบถึงขอบเขต ความจำเพาะ และ การนำไปใช้ประโยชน์ของน้ำยาตรวจยาบ้าด้วยหลักการทางอิมมูโน ให้ทราบว่า ชุดน้ำยาดังกล่าวสามารถใช้ตรวจจับการใช้ยาอนุพันธ์ของยาบ้าชนิดใหม่ๆที่กำลังแพร่ระบาดอยู่ในขณะนี้ได้หรือไม่

ขอบเขตของการวิจัย

การวิจัยจะดำเนินการโดยใช้ตัวอย่างปัสสาวะที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ โดยการเก็บปัสสาวะของผู้ที่มีสุขภาพดี และไม่ได้รับยาใดๆมาเป็นเวลาอย่างน้อย 1 เดือน นำมาเติมสารละลายยาบ้าและยาอนุพันธ์ของยาบ้าที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ แล้วนำไปตรวจวิเคราะห์หายาบ้าด้วยน้ำยา

Amphetamine Roche Abuscreen ONLINE immunoassay โดยเครื่อง Cobas Mira ซึ่งเป็นหลักการที่ใช้ในการตรวจหายาบ้าในกลุ่มคนงานที่จะเดินทางไปทำงานที่ต่างประเทศของหน่วยพิษวิทยา โรงพยาบาลรามาริบดี

ตัวแปรที่ศึกษา

ความเข้มข้นของยาชนิดต่างๆที่ศึกษาในปัสสาวะที่เตรียมขึ้น ที่สามารถให้ผลบวกกับ
หลักการที่ใช้ในการศึกษา

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Amphetamine and methamphetamine are among the most frequently abused drugs worldwide (Rasmussen, et al., 1989). Emergence of chemical analogs of amphetamine and methamphetamine, so called “designer drugs”, has compounded the problem. The production and use of these analogues are for the expressed purpose of evading law enforcement efforts to control drug abuse, and have allowed individuals to create, possess, and sell abusable drugs that are, because of the modifications, outside of the scope of the controlled substances act. Although the controlled substances act has been up-dated to cover these designer drugs, the practical problem of detecting these drugs is still a factor in crippling law enforcement efforts. It is particularly urgent that their identification becomes a routine procedure so as to deter the use of these new drug materials. Until this capability is achieved, they can still be used without effective interference from law enforcement agencies (Cody. and Schwarzhoff, 1993).

Several amphetamine analogs have been seen on the illicit market with increasing frequency (Cody, 1997). Ethylamphetamine is the N-ethyl amine analog of amphetamine. It is widely known as an anorectic agent, *Apetinil*^R. It is abused as an alternative to amphetamine as well (Nagai, et al., 1993, Nagai, et al., 1997). 3,4-Methylenedioxy-amphetamine (MDA), 3,4-methylenedioxymeth-amphetamine (MDMA, ‘ecstasy’), and 3,4-methylene dioxyethyl-amphetamine (MDEA, ‘Eve’) are ring-substituted analogs of amphetamine. MDEA is the newest recreational drug, and became listed as a schedule I control substance not so long ago. MDA, although a popular drug of abuse in its own right, is also a metabolite of MDMA and MDEA produced in vivo by the N-dealkylation of the parent structures. This occurs in the

same manner that methamphetamine and ethylamphetamine undergo N-dealkylation to form its metabolite, amphetamine (Hegadoren, et al., 1995).

Generally the first step in the detection of possible drug consumption in modern forensic toxicological analysis is the immunological screening of a urine sample. Immunological assays are popular, because the methods are simple, are able to test many samples in a short time, are of acceptable reliability, and are reasonably cost-effective. Amphetamine immunoassays are also widely recognized as problematical because of the large number of false positive screen results that are produced. The false positive results are due to the many sympathomimetic amine drugs found in over-the-counter (non-prescription) medications, including diet aids and cold remedies. In the testing of urine, false positives may result from drugs; such as pseudoephedrine, phentermine, phenylpropanolamine, that are structurally similar to amphetamine. These medications are regularly ingested in sufficient quantities to yield high enough concentrations in urine samples submitted for drugs of abuse testing and lead to cross-reacting with the screening assays, which require a laboratory to have a rigorous, properly validated confirmation assay to positively identify the drugs of interest. To minimize the number of false positive urine samples and reduce unnecessary expenditure of time and money in confirmatory test, screening methods need to have a high specificity. Immunological techniques that use antibodies with cross-reactivity toward amphetamine analogs; however, are particularly useful for drug screening when and where the positive results for the analogs are expected (Cody, 1990, D'Nicuola, et al., 1992, Yamada, et al., 1998).

บทที่ 3

วิธีดำเนินการศึกษาค้นคว้า

การกำหนดประชากรและการเลือกกลุ่มตัวอย่าง

การวิจัยจะดำเนินการโดยใช้ตัวอย่างปัสสาวะที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ โดยการเก็บปัสสาวะของผู้ที่มีสุขภาพดี และไม่ได้รับยาใดๆมาเป็นเวลาอย่างน้อย 1 เดือน นำมาเติมสารละลายยาบ้าและยาอนุพันธ์ของยาบ้าที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ แล้วนำไปตรวจวิเคราะห์หายาบ้าด้วยน้ำยา Amphetamine Roche Abuscreen ONLINE immunoassay โดยเครื่อง Cobas Mira ซึ่งเป็นหลักการที่ใช้ในการตรวจหายาบ้าในกลุ่มคนงานที่จะเดินทางไปทำงานที่ต่างประเทศของหน่วยพิชวิทยา โรงพยาบาลรามารับดี โดยการหาความเข้มข้นของยาชนิดต่างๆที่ศึกษาในปัสสาวะที่เตรียมขึ้น ที่สามารถให้ผลบวกกับหลักการที่ใช้ในการศึกษา

การจัดกระทำและการวิเคราะห์ข้อมูล

การจัดทำเริ่มต้นตั้งแต่การสั่งซื้อและเตรียมสารละลายมาตรฐานของยาที่ต้องการศึกษา การเก็บสะสมปัสสาวะที่ปลอดจากยาทุกชนิดเพื่อให้ได้ผลที่ถูกต้อง ไม่ถูกบดเบือนจากยาอื่นๆที่อยู่ในปัสสาวะ ทำการเตรียมปัสสาวะให้มีความเข้มข้นของยาชนิดต่างๆที่ระดับต่างๆกัน แล้วทำการตรวจหายาบ้าในปัสสาวะนั้นๆด้วยน้ำยา Amphetamine Abuscreen ONLINE Roche Immunoassay โดยเครื่อง Cobas Mira ผลบวกที่เกิดจากยาบ้า Amphetamine และ Methamphetamine ถือว่าเป็นผลบวกจริง (true positive) ผลบวกที่เกิดจากยาอื่น ถือเป็นผลบวกกลวง (false positive) ความเข้มข้นของยาที่ให้ผลบวกจะถูกเจือจางด้วยปัสสาวะไปเรื่อยๆจนถึงความเข้มข้นที่ไม่ก่อให้เกิดผลบวก

บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

น้ำยา Amphetamine Abuscreen ONLINE Roche Immunoassay ถูกออกแบบให้ทดสอบเป็นบวก หรือมีนัยสำคัญที่ระดับสัญญาณเท่ากับความเข้มข้นของ Amphetamine เท่ากับ 1000 ng/mL สัญญาณที่ให้ค่าความเข้มข้นต่ำกว่านี้ให้ถือว่าเป็นลบ ซึ่งหมายถึงมีระดับยาบ้าไม่มากพอที่จะสร้างความมั่นใจในการรายงานผลบวก จากตารางที่ 1 จะเห็นว่า ethylamphetamine, MDEA, MDMA, และ methamphetamine ที่ระดับความเข้มข้นสูงมากถึง 50,000 ng/mL ยังคงให้ค่าการตรวจวัดต่ำกว่า 1000 ng/mL หรือให้ผลเป็นลบในการรายงานผล ขณะที่ amphetamine ให้ผลบวกตั้งแต่ที่ความเข้มข้น 1000 ng/mL และ MDA ซึ่งเป็นยาที่ออกฤทธิ์คล้ายยาบ้า แต่เป็นที่นิยมใช้น้อยกว่า ให้ผลบวกที่ความเข้มข้น 3000 ng/mL

Table 1 Cross-reactivity of Amphetamine Analogs with ONLINE Abuscreen Amphetamine Reagent Kit.

Chemical	Expected Values (ng/mL)	Observed Values (ng/mL)
Ethylamphetamine	50,000	448
MDEA	50,000	519
MDEA	25,000	424
MDMA	50,000	490
MDA	5,000	>1,000
MDA	3,000	>1,000
MDA	2,000	626
MDA	1,000	333
d,l-Methamphetamine	50,000	735
d,l-Methamphetamine	25,000	422
d-Methamphetamine	50,000	768
d-Methamphetamine	25,000	620
d-Methamphetamine	12,500	497
d,l-Amphetamine	1,000	>1,000

บทที่ 5

สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการศึกษาค้นคว้า, อภิปรายผล, และ ข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า น้ำยาตรวจวิเคราะห์หายาบ้าที่ใช้อยู่ในประเทศไทยมีความจำเพาะสูงต่อยาบ้าชนิด Amphetamine ซึ่งเป็นยาบ้าชนิดที่มีการใช้อย่างแพร่หลายในอดีต แต่ไม่มีความจำเพาะต่อยาบ้าชนิด Methamphetamine ซึ่งเป็นยาบ้าที่กำลังเป็นที่นิยมใช้ในหลายประเทศ คาดว่าจะรวมประเทศไทยด้วย นอกจากนี้ ความคาดหวังที่จะใช้การตรวจวิเคราะห์นี้ในการตรวจคัดแยก (screening) ผู้ที่ใช้อีและขาดความอ่อนชนิด ethylamphetamine ที่มีข่าวการใช้ในตลาดมืดในไทย ก็ไม่ประสบความสำเร็จ หลักการตรวจที่สามารถตรวจได้ครอบคลุมยาบ้าและยาอนุพันธ์ของยาบ้า จะต้องได้รับการพัฒนา เพื่อแก้ปัญหการแพร่ระบาดของยาในกลุ่มนี้อย่างมีประสิทธิภาพ

บรรณานุกรม

1. S. Rasmussen, R. Cole, and V. Spiehler. Methamphetamine in antemortem blood and urine by radioimmunoassay and GC/MS. J. Anal. Toxicol. 13: 263-7 (1989).
2. J.T. Cody. and R. Schwarzhoff. Fluorescence polarization immunoassay detection of amphetamine, methamphetamine, and illicit amphetamine analogues. J. Anal. Toxicol. 17: 26-30 (1993).
3. J.T. Cody. Detection of d,l-amphetamine, d,l-methamphetamine, and illicit amphetamine analogs using diagnostic products corporation's amphetamine and methamphetamine radioimmunoassay. J. Anal. Toxicol. 14: 321-4 (1990).
4. T. Nagai, H. Kanaya, K. Matsushima, and S. Kamiyama. Time-lapse changes of d- and l-enantiomers of racemic (dl)-ethylamphetamine in human urine. J. Anal. Toxicol. 21: 112-5 (1997).
5. Nagai, T., Kamiyama, S., Matsushima, K. Optical isomer analysis of Ethylamphetamine from human urine and an anorectic drug, Apetinil Depo. Nippon-Hoigaku-Zasshi 1993: 330-335.

6. K.M. Hegadoren, G.B. Baker, and R.T. Coutts. Analysis of the enantiomers of 3,4-methylenedioxy-N-ethylamphetamine (MDE, "Eve") and its metabolite 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDA) in rat brain. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods.* 34: 117-23 (1995).
7. J. D'Nicuola, R. Jones, B. Levine, and M.L. Smith. Evaluation of six commercial amphetamines and methamphetamine immunoassays for cross-reactivity to phenylpropanolamine and ephedrine in urine. *J. Anal. Toxicol.* 16: 211-3 (1992).
8. Cody, J.T. Cross-reactivity of amphetamine analogues with Roche Abuscreen radioimmunoassay reagents. *J Anal Toxicol* 1990: 50-53.
9. Yamada, H., Ikeda-Wada, S., Oguri, K. A new screening method for amphetamine and methamphetamine using dansyl chloride derivatization and cartridge fluorescence. *Biol Phar Bull* 1998: 778-781.

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อผู้วิจัย

วีรวรรณ เล็กสกุลไชย

Veeravan Lekskulchai

ตำแหน่งและสถานที่ทำงานปัจจุบัน
ประวัติการศึกษา

อาจารย์ สังกัด ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มศว

พ.ศ. 2531

วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เกียรตินิยมอันดับ 1)
สาขา เทคนิคการแพทย์ จาก มหาวิทยาลัยมหิดล

พ.ศ. 2535

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พยาธิวิทยาคลินิก)
จาก คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี

พ.ศ. 2542

Doctor of Philosophy (Pathology) from
Medical College of Virginia Campus
Virginia Commonwealth University, USA

ประสบการณ์ในการวิจัย:

1. การตรวจหาระดับ delta-aminolevulinic acid ในปัสสาวะของผู้ที่ทำงานใกล้ชิดกับสารตะกั่ว
2. การจัดการรบกวนของบิลิรูบินในน้ำเลือดในการตรวจหาปริมาณโคเลสเตอรอลในเลือด
3. การตรวจแยกชนิดของไอโซเมอร์ของยาบ้า

ผลงานวิจัย

GC Analysis of Chloroephedrine, The Impurity in Illicit Methamphetamine Synthesis (In Press)

ประวัติการรับทุน

พ.ศ. 2542

ทุนวิจัยจากเงินรายได้มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
สำหรับนักวิจัยรุ่นใหม่แบบไม่กำหนดทิศทาง เป็นเงิน
20000 บาท