تشخیص فنوباربیتال در خون اجساد توسط (EMIT)^{R}

نویسندگان:
دکتر حسن توفیقی
دانشیار و مدیرگروه پزشکی قانونی و طب کار دانشکدهٔ پزشکی
دانشگاه علوم پزشکی تهران
دکتر مهشید افشار
دانشیار گروه پزشکی قانونی و طب کار دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران
دکتر شهناز حاجی قاسم
دکتر داروساز و کارشناس آزمایشگاه سم شناسی پزشکی قانونی تهران
مصطفی شاهی نصرت آباد
کارشناس ارشد سم شناسی پزشکی قانونی تهران

خلاصه

مرگ در اثر مصرف باربیتوراتها با ۱۹/۲ درصد کل موارد مسمومیتها، دومین علت مرگ و میر ناشی از مصرف سموم (پس از مواد مخدر) ذکر شده است. با توجه به مسمومیتهای حاصله و نیاز به تشخیص عامل اصلی مسمومیت قبل و بعد از مرگ، لزوم انتخاب روشهای مناسب تشخیص یک پیش شرط ضروری در تحقیقات سم شناسی بالینی و پزشکی قانونی است. این نوشتار نیز روش آنالیز مستقیم خون کامل و همولیز جهت تعیین کیفی و نیمه کمی فنوباربیتال با استفاده از (EMIT)^{R}[1] را توضیح می‌دهد. روشهای ایمنی سنجی (نظیر EMIT) از سری روشهایی است که در تجزیه داروهااز مایعات بیولوژیک جایگاه ویژه‌ای دارد، مقبولیت این روش به علت حساسیت، سرعت و امکان تجزیه تعداد زیادی از نمونه‌ها در زمانی کوتاه و در مقادیر بسیار کم است.

در این بررسی با بکارگیری ۲۳ نمونه خون فاسد، پس از انجام مراحل استخراج با استفاده از حلال متانول بر روی ۱ میلی لیتر از نمونه، آنالیز بطور مستقیم با سنجشهای ادراری (EMIT)^{R} (حد حساسیت ۳۰۰ نانوگرم به ازای هر میلی لیتر) انجام گرفت و پس از تشخیص فنوباربیتال موجود در خون، غلظت خونی آن در رنج ۲۸۳-۷۷ میکروگرم به ازای هر میلی لیتر تعیین گردید. بدین ترتیب این روش می‌تواند جهت جداسازی غلظتهای سمی و کشنده موجود در پزشکی قانونی (زمانی که تنها نمونه خونی با مقدار کم در دسترس است) روش مفیدی باشد.

واژه‌های کلیدی:

فنوباربیتال (Phenobarbital) ـ روش ایمنی سنجی (EMIT)^{R} جسد (Post-mortem) خون (Blood)
سم شناسی پزشکی قانونی (Forensic Toxicology)

۱- Enzyme Multiple Immunoassay Technique

مقدمه

با افزایش حساسیت روزافزون انسانها و زندگی در دنیای مملو از اضطراب و تشویش، مصرف مسکن‌ها و خواب‌آورها نیز افزایش زیادی یافته است. باربیتوراتها نیز که در زمره مهمترین خواب‌آورها هستند دائماً مورداستفاده عموم قرار می‌گیرد. اعتیاد، خودکشی و مرگهای اتفاقی در اثر مصرف ناصحیح این داروها موضوعی است که پیوسته در طب بدان توجه شده است(۴).

طبق گزارشی که در سال ۱۳۷۰ از مرکز پزشکی قانونی تهران ارائه شده است، باربیتوراتها علت ۱۱٪ از کل موارد مسمومیت‌زا و ۲۵٪ از مسمومیتهای دارویی منجر به فوت ذکر می‌گردد، ضمناً در این گزارش علت مرگ در ۲۵٪ موارد مسمومیت با این دارو، اقدام به خودکشی بیان گردیده است. (۱۰)

لذا با توجه به فراوانی مسمومیتهای منجر به فوت با فنوباربیتال، دسترسی به تکنیکی حساس، اختصاصی و سریع که بتواند با حداقل مقدار نمونه پس از مرگ، نظیر خون فاسد و همولیز، عامل کشندگی را تعیین نماید، روشی ایده‌آل محسوب می‌گردد.

بیشترین روشهای گزارش شده در رابطه با استخراج این دارو، توسط حلالهای آلی است. استن یکی از این حلالهاست که به دلایل متعددی نظیر مصرف حجم نسبتاً زیادی از نمونه و صرف زمان طولانی جهت تبخیر حلال، کمتر مورد نظر بوده و در نتیجه الزاماً از حلال متانول در این بررسی استفاده گردیده است. روش مذکور بطور موفقیت آمیزی جهت آنالیز چند صد نمونه خون اجساد (Post-mortem) در پزشکی قانونی بکار برده شده است (۱)،(۵)،(۶).

در این بررسی تلاش گردید، روش استفاده از خون همولیز و فاسد جهت تشخیص فنوباربیتال توسط $(EMIT)^R$ برای اولین بار بصورت یک روش کاربردی درآید، به همین جهت با استفاده از ۱ میلی لیتر نمونه خون فاسد و روش آنزیم ایمونواسی هموژنز، فنوباربیتال در خون قربانیان این دارو تعیین گردید(۲).

حساسیت این روش در رقابت با سایر روش های ایمونواسی نظیر RIA [۱] جهت تعیین داروها در خون، تقریباً مطابقت می‌کند(۶).

اساس شناسایی در $(EMIT)^R$ در واقع بر مبنای رقابت داروی مورد آزمون و داروی مارکه شده (با آنزیم G6PDH) برای پیوند با آنتی بادی است که در صورت وجود داروی موردسنجش، میزان تشکیل کمپلکس آنتی بادی و داروی مارکه شده کاهش پیدا می‌کند و بدین ترتیب با افزایش فعالیت آنزیم (G6PDH)، سوبسترا (G6P) دهیدروژنه شده و همین سبب احیا کوآنزیم (NAD^+) به (NADH) می‌گردد. از آنجائیکه (NADH) دارای طیف جذبی در

۱- Radio Immunoassay

۳۴۰ نـــانومتر است لذا وجـــود جـذب، نشـــاندهنده حـــضور دارو در نـــمونه می‌باشد(۶)،(۷)،(۸).

مواد و روشها

مواد و وسایل:

۱ـ اتانول

C_2H_5OH, (Analytical Grade, Merk)

۲ـ متانول

CH_3OH, (Analytical Grade, Merk)

۳ـ فنوباربیتال سدیم

$C_{12}H_{11}N_2O_3Na$ (Chemical LTD Poole England)

۴ـ دستگاه $(EMIT)^R$ متعلق به Syva Co. مجهز به:

I ـ دســـتگاه نـــمونه بـــردار (Syva Autocarousel) به همراه پیپت رقیق کننده مدل CP-5000

II ـ اسپکتروفتومتر (Syva StasarIII or Gilford StasarIII)

III ـ دســتگاه خـلاء (Gilford 3021) و پمپ (Deribiss)

۵ـ دستگاه گاز کروماتوگرافی (GC)

شرایط دستگاه:

دمای محل تزریق	۲۴۰°c
دمای ستون	۲۳۰°c
دمای آشکارساز	۲۵۰°c
سرعت جریان گاز حامل	۳۰ ml/min
دامنه	1×10^{-10} afs
سرعت جریان هیدروژن	۲۵ ml/min
سرعت جریان هوا	۳۰۰ ml/min

مدل 3700-Varian ، ستون SE-30 ، دتکتور F.I.D

۶ـ کیت سنجش $(EMIT)^R$:

$(EMIT)^R$ Phenobarbital Assay Syva Company, Palo Alto, CA. 94303 (USA)

شامل:

I ـ معرف A (آنتی بادی ـ G6P ـ NAD^+)

II ـ مـعرف B (داروی مـارکه شـده بـا G6PDH)

III ـ بافر (۹)

۷ـ همزن برقی (DENA - Whirlinixer)

۸ـ فـیلتر مـخصوص (یکـبار مـصرف) (Gelman Acordise, Product NO. 4148)_(0.45 μm)

۹ـ سانتریفوژ 3000 rpm (MSE London),

انتخاب نمونه

با توجه به کینتیک داروهای اسیدی (از جمله باربیتوراتها) کـه غـلظتشان در مـدت کـوتاهی پس از مـصرف در خـون افـزایش مـی‌یابد، نـمونه خـون یکـی از مـهمترین نـــمونه‌ها در انـــدازه‌گـــیری ایـن دارو می‌باشد (۳). متأسفانه در آزمـایشگاههای

پزشکی قانونی به علت همولیز بودن خون، استفاده از سرم در روش $(EMIT)^R$ با محدودیتهایی روبرو است (۱)،(۲)،(۳)،(۵). بنابراین با توجه به فساد نمونه‌های موجود در پزشکی قانونی، خون همولیز و فاسد به عنوان نمونه انتخابی در روش تحقیق موردبررسی قرار گرفت.

از این رو تعداد ۲۳ نمونه خون فاسد با روش مذکور آنالیز شد که تعداد ۱۵ نمونه از کل آن مربوط به خون اجسادی بود که قبلاً توسط روشهای کروماتوگرافی لایه نازک (TLC)[۱] و گاز کروماتوگرافی (GC)[۲]، آنالیز و وجود فنوباربیتال در نمونه‌های امعاء و احشاء (معده و کبد) تأیید و مثبت گزارش شده بود و ۸ نمونه باقیمانده (نمونه شاهد) از خون اجسادی بود که در امعاء و احشاء آنها هیچگونه دارویی یافت نشده بود. این نمونه‌ها مربوط به اجسادی می‌باشد که در تاریخ ۷۲/۱/۱ لغایت ۷۲/۱۲/۲۹ به آزمایشگاه سم شناسی سازمان پزشکی قانونی کشور ارجاع شده، که ۶ نفر (۴۰ درصد) زن و ۹ نفر (۶۰ درصد) مرد می‌باشند و متوسط سنی این افراد ۳۰ سال است. (جدول ضمیمه)

روش بررسی

الف ـ تهیه محلولهای استاندارد: مرحله اول در تعیین سطح فنوباربیتال خون افراد مشکوک به مسمومیتهای منجر به فوت با این دارو، تهیه غلظتهای مختلفی از فنوباربیتال جهت رسم منحنی استاندارد است. بدین منظور طبق روشهای معمول، ابتدا محلول ذخیره $\mu g/ml$[۳] ۱۰۰ فنوباربیتال تهیه گردید. در تهیه محلول ذخیره مقدار mg ۱۰ فنوباربیتال پس از توزین در ml ۱۰ اتانول حل و سپس با آب مقطر به حجم ml ۱۰۰ رسید (۲).

ب ـ تهیه منحنی کالیبراسیون: پس از تهیه محلول ذخیره، غلظتهای مختلفی از این محلول ساخته شد و سپس به خون تازه و عاری از دارو[۴] اضافه گردید، غلظت نمونه‌های استاندارد تهیه شده عبارت از:

(۰ ، ۵ ، ۱۰ ، ۲۰ ، ۳۰ ، ۴۰ ، ۸۰ ، ۱۰۰ ، ۱۵۰ ، ۲۰۰ ، ۲۵۰ ، ۳۰۰ ، ۴۰۰) میکروگرم، فنوباربیتال در ۱ میلی لیتر خون می‌باشد (منحنی شماره ۱).

ج ـ روش استخراج دارو از نمونه خون: ابتدا به یک میلی‌لیتر از نمونه مشکوک موجود در لوله آزمایش ۲ میلی‌لیتر از حلال متانول را افزوده و پس از بستن سر لوله‌ها توسط چسب پارافین، به مدت ۳ دقیقه با حرکات شدید و چرخشی[۵] بهم زده و سپس به مدت ۵

۱- Thin Layer Chromatography

۲- Gas Chromatography

۳- Stock

۴- Free drug

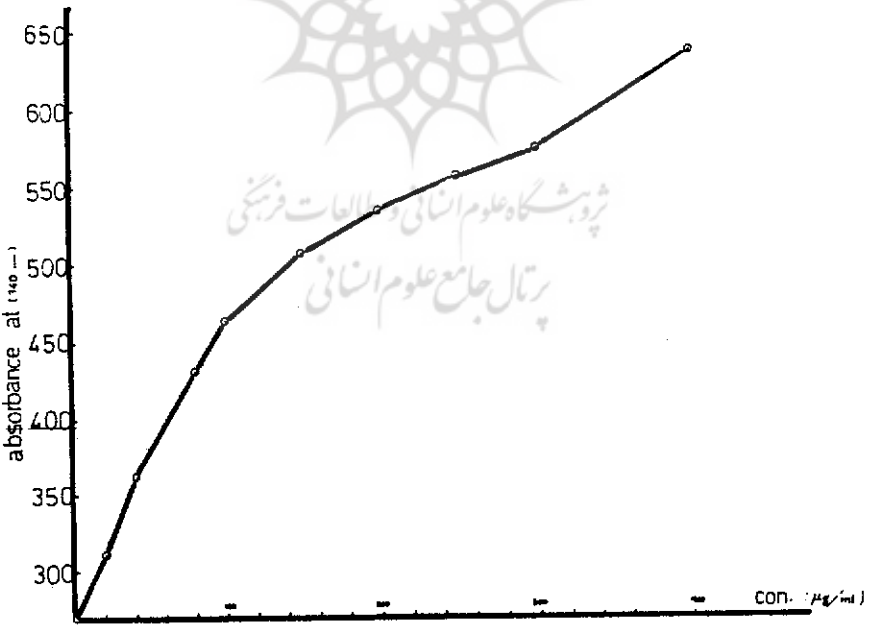
۵- Vortex

دقیقه روی نمونه‌ها سانتریفوژ (با قدرت ۳۰۰۰ rpm) انجام گرفت. پس از جدا کردن محلول رویی توسط پیپت پاستور، آن را توسط فیلتر مخصوص (۰/۴۵ μm) صاف کرده و محلول صاف شده جهت تزریق به دستگاه آماده شد (۶). نمونه‌های موردنظر تماماً به طریقه Duplicate آزمایش شده‌اند.(۲)

د ـ برنامه‌ریزی و آماده سازی دستگاه EMIT: پس از تزریق نمونه استخراج شده به اسپکتروفتومتر جذب نهایی توسط $(EMIT)^R$ محاسبه و ثبت می‌گردد که این عدد در واقع تفاوت بین دو جذب می‌باشد که به صورت ΔA مشاهده می‌گردد (۲).

با مقایسه جذبهای حاصله با جذب خوانده شده از کالیبراتور (با غلظت ۳۰۰ ng/ml) می‌توان تعیین کیفی کرد و با استفاده از منحنی کالیبراسیون، غلظت نمونه نیز تعیین می‌گردد.

هـ ـ روش استخراج دارو از نمونه بافت (کبد و معده): نخستین مرحله در جداسازی داروها از نسج، شکستن پروتئینها و آزاد کردن داروها از ماتریکس اولیه آنهاست.



منحنی شماره ۱ـ منحنی کالیبراسیون که در برگیرنده غلظت فنوباربیتال خون در دامنهٔ دوزهای تحت درمانی، درمانی، سمی و کشنده می‌باشد.

در روش بکار برده شده، سعی گردید جهت بازیابی بیشتر دارو، از انهدام پروتئینها به هردو طریق هیدرولیز پروتئینی و رسوب سازی پروتئینی استفاده گردد، بدین ترتیب با افزایش ۱۰۰ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۱۰ درصد و ۵۰ گرم سولفات آمونیوم به ۱۰۰-۵۰ گرم نمونه امعاء و احشاء (معده و کبد) نمونه جهت حرارت دهی (حدود نیم ساعت) آماده و با PH=۳ توسط حلال اتر عصاره‌گیری گردید. طی دو مرحله و پس از جداکردن لایه اتری، آن را با ۲۰۰-۱۵۰ میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم ۱/۰ نرمال استخراج نموده و پس از جداکردن فاز آبی و اسیدی کردن، مجدداً با اتر استخراج شد که عصاره خشک شده لایه اتری (فاز آلی) حاوی داروهای اسیدی ضعیف از جمله باربیتوراتها است.

عصاره خشک شده به دو روش کروماتوگرافی (TLC) و (GC) مورد آزمون قرار گرفت. سیستم System TD, TLC که شامل فاز متحرک: (کلروفرم - استن) (۴:۱) بوده و سپس اسپری با محلول کلرور مرکوریک و معرف دی‌فنیل کاربازون که لکه بنفش رنگی ایجاد می‌نماید، انجام گرفت. پلیت مورد مصرف Silicagel G با ضخامت ۲۵۰ μm بود (۷).

یافته ها:

- با مراجعه به پرونده پزشکی متوفیات و با توجه به گزارش آزمایشگاه سم شناسی که حاکی از وجود فنوباربیتال در امعاء و احشاء اجساد است نمونه‌های مثبت انتخاب شد. روند افزایش غلظت بدست آمده در خون در این بررسی با افزایش شدت واکنش مثبت تطابق می‌کند (جدول ضمیمه).

- جهت رسم منحنی کالیبراسیون و با استفاده از غلظت استاندارد تهیه شده (μg/ml)، مقادیر جذبی در دامنه ۶۴۰-۲۷۲ حاصل گردید (جدول ۱).

جدول شماره (۱) نشانگر مقدار جذب و غلظت بدست آمده از تزریق ۱۰ غلظت استاندارد به دستگاه EMIT (استخراج با حلال متانول)

شماره کالیبراتور	A	C (μg/ml)
۱	۲۷۲	۰
۲	۳۱۳	۲۰
۳	۳۶۴	۴۰
۴	۴۳۳	۸۰
۵	۴۶۵	۱۰۰
۶	۵۰۹	۱۵۰
۷	۵۳۷	۲۰۰
۸	۵۵۹	۲۵۰
۹	۵۷۷	۳۰۰
۱۰	۶۴۰	۴۰۰

– با استفاده از منحنی کالیبراسیون حاصله که دربرگیرنده غلظت فنوباربیتال خون در دامنه دوزهای تحت درمانی، درمانی، سمی و کشنده است می‌توان غلظت فنوباربیتال موجود در نمونه‌ها را در رنج ۰-۴۰۰ μg/ml تعیین کرد (منحنی ۱).

– در روش رسوبی متانول، با انتقال مقادیر جذبی بدست آمده از هر نمونه مثبت بر روی منحنی کالیبراسیون، غلظتهای فنوباربیتال موجود در رنج ۷۷-۲۸۳ μg/ml تعیین گردید (جدول ۲).

– در روش مورد بررسی، مقادیر جذبی مربوط به ۸ نمونه شاهد در جدول شماره ۳ مشخص شده است.

بحث و نتیجه گیری

درصد بالای مسمومیت های ناشی از مصرف باربیتوراتها (خصوصاً فنوباربیتال)، لزوم بررسی و انتخاب روشهای مناسب تشخیص جهت تعیین این دارو را موجب گردید.

از زمان ارائه تکنیکهای ایمونواسی جهت تشخیص داروها در ادرار، توجه محققان همواره به کاربرد این روشها در مورد سایر مایعات بیولوژیکی از جمله‌خون کامل، صفرا و بافتها معطوف بوده‌است (۵). از آنجائیکه نمونه‌های خون درپزشکی قانونی اکثراً بسیار فاسدند و نیز به علت عدم دسترسی کامل و صددرصد به نمونه‌های ادرار و محتویات معده و همچنین با در نظر داشتن ویژگیهای کینتیکی این دارو (فنوباربیتال) که غلظت آن پس از مدت کوتاهی در خون افزایش می‌یابد و نیز مشکلاتی که در جداسازی اجزاء مختلف خون از جمله سرم، پلاسما و غیره بعد از مرگ وجود دارد، خون کامل یک نمونه انتخابی در تشخیص فنوباربیتال و باربیتوراتها در آزمایشگاههای سم شناسی می‌باشد.

تکنیک $EMIT^{R}$ ابتدا جهت تشخیص و کنترل داروها در رنج درمانی در سرم و خون طراحی گردید، حال آنکه بایستی کاربرد این روش در مورد نمونه‌های خون همولیز و فاسد و به عبارت روشن‌تر در سم شناسی پزشکی قانونی (Forensic Toxicology) نیز روشن می‌گردید.

جهت بدست آوردن یک روش قابل قبول برای تعیین مقدار فنوباربیتال در نمونه‌های خون با $EMIT^{R}$، به سبب آنکه کیت مصرفی تنها دارای کالیبراتورهای دارو در غلظتهای تحت درمانی، درمانی و سمی بالای دارو (در حد کشنده) در ۳۰ μg/ml بوده و به علت وجود غلظتهای نمونه‌ها، در دامنه ۰-۸۰ μg/ml و غلظت کنترل، به تهیه منحنی‌استانداردی که تعیین غلظت فنوباربیتال در طیف وسیعی از غلظتهای این دارو میسر باشد، مبادرت گردید. بدین ترتیب منحنی کالیبراسیون با تزریق غلظتهای استاندارد تهیه‌شده (در محدوده ۰-۴۰۰ μg/ml) به EMIT، رسم گردید.

طبق جدول شماره (۲) دوز کشنده نمونه‌های مورد آزمایش در دامنه

۷۷-۲۸۳μg/ml تعیین گردید، بطوریکه این نتایج با گزارشاتی که در مورد دوز کشنده فنوباربیتال در خون وجود دارد مطابقت می‌نماید (۵)،(۸)،(۹).

روشی که در آزمایشگاههای سم‌شناسی جهت تعیین کیفی و کمی فنوباربیتال در خون همولیز شده اجساد انجام گرفته است، روش رسوبی متانول (۶) و حلال DMF ـ N و N (۵) بوده و گزارشات انجام شده توسط محققان حاکی از آن است که از ۶۱ نمونه آنالیز شده جهت شناسایی باربیتوراتها ۱۵ مورد هم با EMIT و هم با GC جواب مثبت داده‌اند و ۴۴ مورد با هر دو، جواب منفی و نیز ۲ مورد (۳ درصد) با EMIT منفی و GC مثبت بوده است (۵).

در بررسی انجام شده، با مقایسه بین نتایج حاصله از (EMIT)^{R} در تعیین کیفی فنوباربیتال (موجود در خون فاسد) و روشهای کروماتوگرافی (GC) و (TLC) در تشخیص فنوباربیتال موجود در امعاء واحشاء اجساد (معده و کبد)، ارتباط مناسب و منطقی مشاهده می‌گردد، بطوریکه کلیه نمونه‌های مثبت در هر سه روش مثبت گزارش شده و در هیچ یک از نمونه‌ها جواب مثبت کاذب با (EMIT)^{R} مشاهده نگردیده است.

با وجود تطابق کاملی که بین این سه روش در تعیین کیفی دارو وجود دارد مزایایی از جمله: ۱ـ مصرف حجم نمونه مورد نیاز به میزان حداقل یک دهم روشهای کروماتوگرافی، ۲ـ صرف زمان بسیار کوتاهتر، ۳ـ عدم ضرورت کنترل PH قبل ازمرحله استخراج، ۴ـ عدم نیاز به مهارت تکنیکی زیاد، ۵ـ ایجاد تنها یک فاز با رسوب پروتئینها (چراکه متانول قابل امتزاج با آب بوده و کلیه داروها بطور همزمان در مایع صاف شده رویی وارد می‌شود) و ۶ـ امکان تعیین کیفی و کمی داروها در خون‌کامل،امکان کاربرد روش (EMIT)^{R} را نسبت به روشهای کروماتوگرافی (GC و TLC) در آنالیز نمونه‌های خون (زمانیکه سایر نمونه‌ها در دسترس نیست و لذا امکان آنالیز آنها با روشهای کروماتوگرافی وجود ندارد) نشان می‌دهد.

در بررسی نمونه‌های ۲۰ و ۲۱ (جدول شماره ۳) که جذبهای کمی بالاتر از کالیبراتور صفر بدست آمده می‌توان چنین بیان کرد:

علیرغم اینکه عدم وجود فنوباربیتال و دیگر داروها در نمونه‌ها با روش GC و TLC تأیید شده است، ولی چون خون مورد آزمایش همولیز بوده ممکن است ترکیبات تولید شده در اثر همولیز و یا وجود ترکیبات دیگر در نمونه سبب ایجاد جذب توسط روش EMIT شده‌اند.

جدول شماره ۲ـ مقدار جذب و غلظت بدست آمده از ۱۵ نمونه با استخراج متانول و DMF

حلال DMF		حلال متانول		نمونه فنوباربیتال مثبت
C (μg/ml)	A	C (μg/ml)	A	شماره نمونه
۱۳۶	۵۰۰	۱۰۹	۴۷۵	۱
۸۵	۴۴۴	۷۷	۴۳۳	۲
۲۶۸	۵۶۵	۱۴۶	۵۰۷	۳
۱۴۲	۵۰۴	۱۰۴	۴۶۹	۴
۱۴۳	۵۰۵	۱۲۹	۴۹۴	۵
۲۶۸	۵۶۴	۲۶۷	۵۶۳	۵
۲۲۰	۵۴۵	۱۵۰	۵۱۰	۷
۱۳۲	۴۹۶	۸۹	۴۵۰	۸
۲۸۹	۵۷۳	۲۸۳	۵۷۰	۹
۲۱۱	۵۴۱	۲۰۰	۵۳۷	۱۰
۲۱۱	۵۴۱	۱۴۱	۵۰۳	۱۱
۱۸۶	۵۳۱	۱۴۶	۵۰۷	۱۲
۳۱۷	۵۸۹	۲۷۷	۵۶۸	۱۳
۱۱۳	۴۷۶	۹۴	۴۵۹	۱۴
۲۴۴	۵۵۵	۲۴۴	۵۵۵	۱۵

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی

جدول شماره ۳ ـ مقدار جذب حاصل از استخراج ۸ نمونه شاهد

شماره نمونه شاهد	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰*	۲۱*	۲۲	۲۳
مقدار جذب (حلال متانول)	۲۸۱	۲۸۱	۲۸۷	۲۷۹	۳۰۳	۳۰۱	۲۸۴	۲۷۲

جدول ضمیمه ـ علت مرگ، نتایج آزمایشات سم شناسی، سن و جنس و غلظت خونی فنوباربیتال

شماره‌نمونه	الف = علت مرگ ب = نتایج آزمایشگاه سم‌شناسی	سن و جنس	غلظت $\mu g/ml$
۱	الف: بسته شدن مجاری تنفسی با طناب بعد از خوردن داروی فنوباربیتال ب: در امعاء و احشاء فنوباربیتال مثبت +	زن ۱۶ساله	۱۰۹
۲	الف: مسمومیت با داروی فنوباربیتال ب: در امعاء و احشاء فاسد فنوباربیتال مثبت +	مرد ۳۵ ساله	۷۷
۳	الف: مسمومیت با داروی فنوباربیتال ب: در امعاء و احشاء فنوباربیتال مثبت ++	زن ۳۶ ساله	۱۴۶
۴	الف: مسمومیت با داروی فنوباربیتال ب: در احشاء فنوباربیتال مثبت +	زن ۲۷ ساله	۱۰۴
۵	الف: مسمومیت با داروی فنوباربیتال ب: در امعاء و احشاء یک ترکیب باربیتورات (فنوباربیتال) مثبت ++	مرد ۴۲ ساله	۱۲۹
۶	الف: مسمومیت با داروی فنوباربیتال ب: در امعاء و احشاء فنوباربیتال مثبت +++	مرد ۳۷ ساله	۲۶۷
۷	الف: مسمومیت با داروی فنوباربیتال ب: در امعاء و احشاء فنوباربیتال مثبت +++	زن ۳۱ ساله	۱۵۰

ادامه جدول در صفحه بعد ←

ادامه جدول ضمیمه

شماره‌نمونه	الف = علت مرگ ب = نتایج آزمایشات سم شناسی	سن و جنس	غلظت µg/ml
۸	الف: مسمومیت با داروی فنوباربیتال ب : در امعاء و احشاء فنوباربیتال مثبت +	مرد ۲۱ ساله	۸۹
۹	الف: مسمومیت با داروی فنوباربیتال ب: در امعاء و احشاء و ادرار فنوباربیتال مثبت +++	زن ۲۸ ساله	۲۸۳
۱۰	الف: مسمومیت با داروی فنوباربیتال ب: در ادرار و امعاء و احشاء داروهای (مپروبامات و فنوباربیتال) مثبت +++	مرد ۵۶ ساله	۲۰۰
۱۱	الف: مسمومیت با داروی گاروئین ب: در امعاء و احشاء گاروئین مثبت +	زن ۱۹ ساله	۱۴۱
۱۲	الف: مسمومیت با داروی فنوباربیتال ب: در امعاء و احشاء فنوباربیتال مثبت +	مرد ۱۹ ساله	۱۴۶
۱۳	الف: مسمومیت با داروی فنوباربیتال ب: در امعاء و احشاء و ادرار فنوباربیتال مثبت +++	مرد ۲۴ ساله	۲۷۷
۱۴	الف: مسمومیت با داروی فنوباربیتال ب: در امعاء و احشاء فنوباربیتال مثبت +	مرد ۲۵ ساله	۶۴
۱۵	الف: مسمومیت با داروی فنوباربیتال ب: در امعاء و احشاء فنوباربیتال مثبت +++	مرد ۳۵ ساله	۲۴۴

منابع و مآخذ:

1 _ Asselin, W.M and leslie J.M., " Modification of Emit Assay Reagents for improved sensitivity and cost effectivenss in the Analysis of Hemolyzed whole Blood, J. anal. Toxicol. 16:381-388,(1992).

2 _ Asselin, W.M. and leslie J.M., and Mckinley, B., Direct Detection of Drugs of Abuse in whole Hemolyzed Blood using the Emit d.a.u. urine assay, J. anal-Toxicol., 12:207-215, (1988).

3 _ Hombarger, F. and et. al, (eds.), A Guide to general Toxicology, 2nd Ed., New york, Karger (1983), PP 269-284.

4 _ Janicak P.G and et-al, Treatment with anti-anxiety sedative-hypnotic agent principle and Practice of Pscho pharmaco. Therapy, william Twiklins, PP:413-414, (1993).

5 _ Klinger, R.A, Blum, L.M. and Rieders, F., Direct Automated Emit d.a.u. Analysis of N,N.Dimethyl-Formaide-Modified serum, Plasma, and Postmortem Blood for Amphetamines, Barbiturates, Methadone, Methaqualone, Phencyclidine, and Propoxyphenc, J. anal. Toxicol. 14:288-291, (1990).

6 _ Lewellen, L.J. and Mccurdy, J.H., A Novel Procedur for the Analysis of Drugs in Whole blood by Homogeneous enzyme Immunoassay (Emit). J. Anal. Toxicol. 12:260-64 (1988).

7 _ Moffat, A.C. (Ed.) Clark's Isolation and identification of Drugs in Pharmaceuticals, body fluids, and Post-mortem materials, Second Edition, the Pharmaceutical press, London, P:168,883, (1986).

8 _ Winek L.C., Tabulation of Therapevtic, Toxic and Lethal Concentration of Drugs and chemical in Blood, Clin. Chem., 22/6 632-836, (1976).

9 _ Ziminsk, and et-al, Comparative study of Postmortem Barbiturates, Methadone, and Morphin in Vitreaus Humor, Blood and tissue, J. Forensic Science. 29:903-909, (1984).

۱۰ـ دکتر توفیقی ـ حسن، ۱۳۷۳، بررسی مسمومیتهای منجر به فوت ناشی از مصرف مواد مخدر. مجله دانشکده پزشکی، شماره ۱ و ۲ صفحه ۴۳.