

تست سریع مرفین روزان

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

کاربرد

این تست یک روش ایمنونواسی کروماتوگرافیک برای تشخیص مرفین در ادرار با غلظت پایین در حد 300 ng/ml می‌باشد. این تست قادر به ردیابی ترکیبات دیگری نیز می‌باشد. (به جدول ضمیمه مراجعه نمایید).

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 دردهای اپیویدی شامل گروه بزرگی از مواد هستند که با تضعیف سیستم اعصاب مرکزی درد را کنترل می‌کنند. دزهای بالای مرفین می‌تواند سطوح بالای تحمل و وابستگی فیزیولوژیک در مصرف کنندگان ایجاد کند و منجر به سوء مصرف شود. مرفین به صورت متابولیزه نشده دفع می‌شود و محصول اصلی متابولیسم کدئین و هروئین است. مرفین تا چند روز بعد از مصرف اپیویدها در ادرار قابل ردیابی است.

این تست یک تست غربالگری ادراری سریع است که بدون نیاز به وسیله خاصی قابل انجام است. در این تست از آنتی بادهای مونوکلونال که به طور اختصاصی سطوح افزایش یافته مرفین را در ادرار ردیابی می‌کنند استفاده شده است. این تست وقتی سطح مرفین ادرار بالاتر از 300 ng/ml باشد، مثبت می‌شود. این غلظت به عنوان حد پایینی غربالگری (- screening cut off) برای نتایج مثبت توسط Substance Abuse and Mental Health Services Administration SAMHSAUS پیشنهاد شده است.

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 غشاء نیترو سلولز تثبیت شده برای اتصال به آنتی بادی تثبیت شده روی نانو ذرات طلا رقابت می‌کنند. در طی انجام آزمایش نمونه ادرار بر اساس خاصیت مویبستگی به سمت بالا حرکت می‌کند. اگر مرفین در سطوح کمتر از 300 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 مرفین کنژوگه شده جفت می‌شوند و یک خط رنگی قابل رویت در منطقه تست ایجاد می‌کنند. در صورتی که سطح مرفین بیشتر یا مساوی 300 ng/ml باشد، خط رنگی در ناحیه تست ایجاد نخواهد شد. زیرا تمام گیرنده‌های آنتی بادهای ضد مرفین 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 مرفین و مرفین 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 به منظور از بین بردن توار تست باید در ظرف مواد با خطرات بیولوژیک قرار داده شود.

شرایط نگهداری

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 سانتیفریژ 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 $8-20^{\circ}\text{C}$ به مدت ۴۸ ساعت قابل نگهداری می‌باشد. برای نگهداری طولانی مدت باید در دمای کمتر از 20°C 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

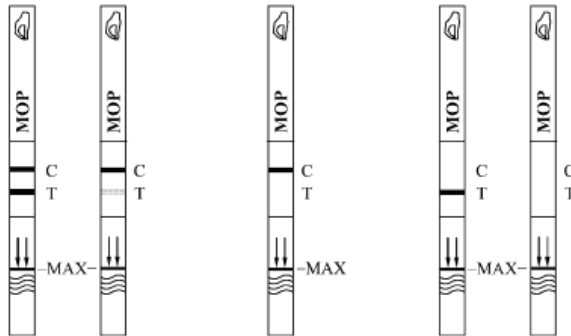
قبل از انجام آزمایش اجازه دهید دمای نوار تست، نمونه ادرار و یا / نمونه‌های کنترل به دمای اتاق ($30-15^{\circ}\text{C}$) برسند.

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.

ROJAN®

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.



منفی

مثبت

نامعتبر

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 مرفین کمتر از سطح قابل ردیابی 300 mg/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 مرفین در ادرار بالاتر از سطح قابل ردیابی 300 ng/ml است.

نامعتبر: 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.

اثر pH

pH به نمونه منفی ادرار از ۵ تا ۹ تغییر داد و به نمونه ها غلظتهای ۱۵۰ ng/ml و ۴۵۰ ng/ml از مرفین اضافه شد. سپس نمونه های خالص با pH متغییر و نمونه‌های با pH متغییر و غلظت مرفین مشخص ، با تست مرفین 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 مرفین انجام شد. ترکیبات زیر تداخلی با نتایج تست مرفین در غلظت ۱۰۰ µg/ml ندارند.

4-Acetamidophenol	Creatinine	Loperamide	β-Phenylethylamine
Acetophenetidin	Deoxycorticosterone	Maprotiline	Phenylpropanolamine
N-Acetylprocainamide	Dextromethorphan	Meperidine	Prednisone
Acetylsalicylic acid	Diazepam	Meprobamate	D,L-Propranolol
Aminopyrine	Diclofenac	Methadone	D-Propoxyphene
Amitriptyline	Diffenosal	Methoxyphenamine	D-Pseudoephedrine
Amobarbital	Digoxin	(+) 3,4-Methylenedioxy-amphetamine	Quinidine
Amoxicillin	Diphenhydramine		Quinine
Ampicillin	Doxylamine	(+) 3,4-Methylenedioxy-methamphetamine	Ranitidine
L-Ascorbic acid	Egonine hydrochloride		Salicylic acid
D,L-Amphetamine	Egonine methylester	Nalidixic acid	Secobarbital
Apomorphine	(-)-α-Ephedrine	Nalorphine	Serotonin
Aspartame	Erythromycin	Naloxone	(5-Hydroxytryramine)
Atropine	β-Estradiol	Naltrexone	Sulfamethazine
Benzilic acid	Estrore-3-sulfate	Naproxen	Sulindac
Benzoic acid	Ethyl-p-aminobenzoate	Niacinamide	Temazepam
Benzoylcegonine	Fenoprofen	Nifedipine	Tetracycline
Benzphetamine	Furosemide	Norethindrone	Tetrahydrocortisone,
Bilirubin	Genitisc acid	D-Norpropoxyphene	3-Acetate
(±) - Brompheniramine	Hemoglobin	Noscapine	Tetrahydrocortisone
Caffeine	Hydralazine	D,L-Octopamine	3-(β-D glucuronide)
Cannabidiol	Hydrochlorothiazide	Oxalic acid	Tetrahydrozoline
Chloralhydrate	Hydrocortisone	Oxazepam	Thiamine
Chloramphenicol	O-Hydroxyhippuric acid	Oxolinic acid	Thioridazine
Chloridazepoxide	p-Hydroxy-methamphetamine	Oxymetazoline	D, L-Tyrosine
Chlorothiazide	Papaverine	Tolbutamide	Dolbutamide
(±) Chlorpheniramine	3-Hydroxytyramine	Penicillin-G	Triamterene
Chlorpromazine	Ibuprofen	Pentazocine	Trifluoperazine
Chlorquine	Imipramine	Pentobarbital	Trimethoprim
Cholesterol	Iproniazid	Perphenazine	Trimipramine
Clomipramine	(±) Isoproterenol	Phencyclidine	Tryptamine
Clonidine	Isosuprine	Phenelzine	D, L-Tryptophan
Cocaine hydrochloride	Ketamine	Phenobarbital	Tyramine
Cortisone	Ketoprofen	Phentermine	Uric acid
(-) Cotinine	Labetalol	L-Phenylephrine	Verapamil
			Zomepirac

Index of Symbols

	قبل از انجام آزمایش، 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



غلظت مرفین (ng/ml)	درصد تشخیص	تعداد	نتیجه	
			مثبت	منفی
۰	٪۰	۳۰	۳۰	۰
۱۵۰	٪-۵۰	۳۰	۳۰	۰
۲۲۵	٪-۲۵	۳۰	۲۵	۵
۳۰۰	حد مرزی	۳۰	۱۷	۱۳
۳۷۵	٪+۲۵	۳۰	۱	۲۹
۴۵۰	٪+۵۰	۳۰	۰	۳۰

ویژگی

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

Compound	Concertrain (ng/ml)	Compound	Concentration (ng/ml)
Codine	300	Morphine 3-B-D-glucuronide	1.000
Ethlmorphine	6.250	Norcocodeine	6.250
Hydrocodone	50.000	Nalmorphone	100.000
Hydromorphone	3.125	Oxycodone	30.000
Levorphanol	1.500	Oxymorphone	100.000
Thebaine	6.250	Procaine	15.000
Morphine	300	6-Monoacethylmorphine	400

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 ۰ ng/ml . ۲۵ ٪ بالا و پایین حد منیمیم تشخیص و ۳۰۰ mg/ml در هر مرکز استفاده شد.

غلظت مرفین (ng/ml)	تعداد	جایگاه A		جایگاه B		جایگاه C	
		-	+	-	+	-	+
0	15	15	0	15	0	15	0
150	15	13	2	13	2	15	0
225	15	3	12	7	8	10	5
375	15	0	15	1	14	0	15
450	15	0	15	0	15	0	15

اثر وزن مخصوص ادرار

به ۱۵ نمونه ادرار با وزن مخصوص ۱/۰۰۱ تا ۱/۰۳۲ مرفین با غلظتهای ۱۵۰ ng/ml و ۴۵۰ ng/ml اضافه شد. سپس نمونه‌های خالص و نمونه‌های با غلظت مشخص مرفین توسط تست مرفین بررسی شدند. نتایج نشان دادند که در محدوده تست شده وزن مخصوص اثری بر نتیجه آزمایش ندارند.

محدودیتها

- این تست فقط یک نتیجه کیفی و ابتدایی را فراهم می‌کند. یک روش بررسی ثانویه برای تشخیص قطعی ضروری است. روش کروماتوگرافی گازی/په همراه اسپکتروسکوپی جرمی (GC/MS) تست ارجح تأییدی است.
- امکان دارد که روش نادرست کار یا اشتباه تکنیکی ، همانند وجود مواد تداخل کننده در نمونه ادرار منجر به نتیجه کاذب شوند.
- تقلب ، 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 تقلب ، باید تست با نمونه ادرار جدید تکرار شود.
- نتیجه مثبت بیانگر وجود دارو یا متابولیت‌های آن می‌باشد. اما مسمومیت ، روش مصرف یا غلظت ادراری آن را نشان نمی‌دهد .
- نتیجه منفی الزاماً بیانگر عدم وجود دارو در ادرار نیست. ممکن است سطح دارو کمتر از سطح قابل ردیابی توسط تست باشد.
- 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 مرفین در دسترس انجام شد. تست روی ۳۰۰ نمونه انجام شد . درصد غلظت نمونه‌های به کار رفته ۲۰ - ٪ و ۲۰ + ٪ حد منیمیم (cut-off) غلظت ۳۰۰ ng/ml مرفین بودند. سپس نتایج مثبت با GC/MS تأیید شدند که نتایج زیر به دست آمد.

نتایج	یک تست مرفین دیگر		روش
	مثبت	منفی	
۱۵۰	۱۵۰	۰	تست مرفین
	۱۵۰	۱۵۰	نواری
۳۰۰	۱۵۰	۱۵۰	نتایج کلی
> ٪ ۹۹	>٪۹۹	>٪۹۹	درصد موفقیت

جدول مقایسه تست در غلظت ۳۰۰ ng/ml با GC/MS

نتایج	GC/MS		روش
	مثبت	منفی	
۱۵۰	۱۴۱	۹	تست مرفین
	۱۵۰	۱۵۰	نواری
۳۰۰	۱۴۱	۱۵۹	نتایج کلی
> ٪ ۹۷	>٪۹۴	>٪۹۹	درصد موفقیت

حساسیت

به یک نمونه ادرار بدون دارو ، غلظتهای زیر از مرفین اضافه شد: ۰ ng/ml ، ۱۵۰ ng/ml ، ۲۲۵ ng/ml ، ۳۰۰ ng/ml ، ۳۷۵ ng/ml ، ۴۵۰ ng/ml . نتایج صحت < ٪ ۹۹ در ۵۰ ٪ نمونه‌های با غلظت بالاتر از حد منیمیم و ۵۰ ٪ با غلظت پایین تر از حد منیمیم را نشان دادند.