



تست ریپید مرفین (نوار تست)

Morphine Rapid Test (MOP) strip

مقدمه

این تست جهت تشخیص کیفی مرفین در ادرار می‌باشد که تنها برای استفاده دارویی و تشخیص in vitro مورد استفاده قرار می‌گیرد.

این تست بر اساس روش ایمنووکروماتوگرافی عمل می‌نماید و حساسیت این تست ۳۰۰ ng/ml می‌باشد (Cut off : ۳۰۰ ng/ml).

این تست تنها فراهم کننده یک نتیجه ابتدایی است. یک روش جایگزین با اختصاصیت بیشتر به منظور تایید نتایج اولیه باید مورد استفاده قرار بگیرد که در این خصوص کروماتوگرافی گازی-اسپکترومتری جرمی (GC/MS) روش ارجح است.

خلاصه

مسکن‌های شبه مخدر شامل گروه بزرگی از مواد هستند که با کاهش درد از طریق سیستم مسکن مرکزی عمل می‌کنند. در بالای مرفین می‌تواند سطح بالاتری از تحمل را ایجاد کند و در مصرف کنندگان آن اعتیادآور می‌باشد. مرفین به صورت متابولیک نشده از ادرار خارج می‌شود و محصول اصلی متابولیک آن کدئین و هرنوین می‌باشد. مرفین تا چندین روز پس از استفاده، قابل ردیابی می‌باشد. نوار تست ریپید مرفین یک غربالگری سریع نمونه‌های ادرار می‌باشد که می‌توان بدون استفاده از وسایل آزمایشگاهی آن را انجام داد. این تست از آنتی بادی مونوکلونال برای تشخیص گزینشی سطح بالای مرفین در ادرار استفاده می‌کند. نوار تست ریپید مرفین در صورتی مثبت می‌شود که سطح مرفین در ادرار به بالای ۳۰۰ ng/ml برسد.

این غلظت به عنوان حد پایین غربالگری (screening-cut off) برای نتایج مثبت توسط Substance Abuse and Mental Health Services Administration (SAMHSA,US) پیشنهاد شده است.

دستورالعمل استفاده

تست ریپید مرفین یک روش ایمنونواسی بر پایه اتصال رقابتی می‌باشد. داروهایی که در نمونه ادرار ممکن است یافت شوند با داروهای حاصل از متابولیک کبد برای اتصال به آنتی بادی‌ها در رقابت هستند. در طی آزمایش نمونه ادرار از طریق خاصیت موئینگی به سمت بالا حرکت می‌کند. اگر مرفین موجود در ادرار زیر ۳۰۰ ng/ml باشد محل‌های اتصال به ذرات پوشیده شده از آنتی بادی را در تست پر نمی‌کند. آنتی بادی که بر روی ذرات موجود است به وسیله مرفین ترکیب شده جذب خواهد شد و از خود یک خط رنگی در ناحیه خط تست (T) برجای خواهد گذاشت. چنانچه سطح مرفین بالای ۳۰۰ ng/ml باشد خط رنگی در ناحیه خط تست (T) ظاهر نخواهد شد زیرا همه محل‌های اتصال آنتی بادی‌های مرفین را اشغال می‌کند. اگر وجود مرفین در نمونه ادرار مثبت باشد خط رنگی در ناحیه خط تست (T) به علت رقابت دارویی تشکیل نخواهد شد در حالی که اگر نمونه ادرار حاوی مقادیر مرفین کمتر از سطح مورد نظر در آزمایش باشد در این ناحیه یک خط رنگی ظاهر می‌شود. به منظور روند کنترل، همیشه یک خط رنگی در ناحیه خط کنترل (C) آشکار می‌شود که نشان دهنده حجم مناسبی از نمونه می‌باشد که به غشا افزوده شده است.

ترکیبات

نوار تست حاوی ذرات متصل به آنتی بادی مونوکلونال ضد مرفین و ترکیب پروتئین - مرفین کژوگه شده می‌باشد. آنتی بادی ثانویه تهیه شده در گونه بز نیز برای خط کنترل به کار گرفته شده است.

احتیاط: تنها برای استفاده تشخیص in vitro می‌باشد.

پس از تاریخ انقضا مصرف نشود. تست تا زمان استفاده باید در بسته بندی باقی بماند. تمام نمونه‌ها باید عفونی در نظر گرفته شوند و کلیه اصول ایمنی جهت جابجایی و استفاده از آن‌ها رعایت شود.

نگهداری و پایداری

نوار تست‌های بسته بندی شده در دمای اتاق یا یخچال نگهداری شود (2-30°C). تست تا زمان تاریخ انقضای درج شده بر روی بسته معتبر می‌باشد. از یخ زدگی محافظت شود و پس از تاریخ انقضا، استفاده نشود.

جمع‌آوری و آماده سازی نمونه

+ جمع‌آوری ادرار : نمونه ادرار باید در یک ظرف تمیز و خشک جمع‌آوری گردد، ادرار جمع‌آوری شده در هر زمان از روز می‌تواند مورد استفاده قرار بگیرد.

+ نگهداری نمونه : نمونه ادرار می‌تواند در دمای ۸-۲۰ °C برای بیشتر از ۴۸ ساعت نگهداری شود. برای ذخیره طولانی مدت نمونه‌ها می‌تواند در دمای ۲۰- °C فریز گردد. نمونه‌های فریز شده باید قبل از تست، خوب و ترکیب گردد.

محتویات و لوازم مورد نیاز

مواد موجود در کیت:
مواد مورد نیاز که در کیت وجود ندارد:

- بروشور
- ظرف جمع‌آوری نمونه
- نوار تست
- تایمر

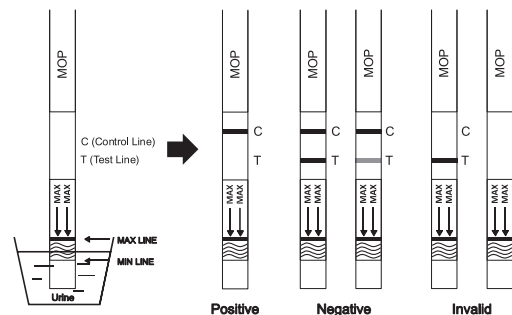
راهنمای استفاده

قبل از انجام آزمایش اجازه دهید نوار تست و نمونه ادرار به دمای اتاق برسد (30°C-15).
• قبل از باز کردن بسته، اجازه دهید دمای نوار تست به دمای اتاق برسد، نوار تست را از پوشش جدا کرده و حدامکان از آن زود استفاده شود.

• نوار تست را از جهتی که فلش‌ها نشان می‌دهند به طور عمودی تا خط ماکزیمم (MAX) وارد نمونه ادرار کنید و حداقل به مدت ۱۵ - ۱۰ ثانیه نگه دارید. به شکل مراجعه فرمایید.

• نوار تست را در سطح صاف و غیرجاذب قرار دهید، تایمر را روشن کنید و منتظر بمانید تا خط رنگی آشکار شود. نتایج را در عرض ۵ دقیقه تفسیر کنید.

+ از تفسیر نتایج پس از ۱۰ دقیقه اجتناب نمایید.



تفسیر نتایج

منفی : دو خط آشکار می‌شود یک خط باید در ناحیه کنترل (C) باشد و خط رنگی دیگر در ناحیه تست (T) ظاهر شود، این نتیجه منفی نشان دهنده آن است که غلظت مرفین کمتر از سطح قابل ردیابی (۳۰۰ ng/ml) می‌باشد.

+ توجه : شدت رنگ در ناحیه تست ممکن است متغیر باشد، ولی آشکار شدن خط رنگی حتی اگر خط کمرنگ شکل گرفته باشد به منزله پاسخ منفی می‌باشد.

مثبت : یک خط رنگی در ناحیه کنترل (C) ظاهر شود و هیچ خطی در ناحیه تست (T) مشاهده نشود. این پاسخ مثبت نشان دهنده غلظت مرفین بالای سطح قابل ردیابی (۳۰۰ ng/ml) می‌باشد.

معتبر : خط کنترل (C) تشکیل نمی‌شود. حجم ناکافی نمونه یا روش اجرای نادرست آزمایش، شایع‌ترین علل عدم تشکیل خط کنترل (C) می‌باشد. مراحل کار را مجدداً بازبینی نموده و تست را با یک نوار تست جدید تکرار کنید. در صورت عدم رفع مشکل، استفاده از نوار تست را متوقف نمایید و بلافاصله به خدمات پس از فروش اطلاع دهید.

کنترل کیفیت

کنترل روش در تست لحاظ گردیده است و خط رنگی ظاهر شده در ناحیه کنترل (C) به عنوان کنترل داخلی در نظر گرفته شده است که تایید کننده حجم کافی نمونه و روش صحیح اجرا می‌باشد. استانداردهای کنترل همراه این نوار تست نمی‌باشد. انجام تست با کنترل‌های مثبت و منفی در یک آزمایشگاه معتبر برای تایید روش و صحت انجام تست توصیه می‌گردد.

محدودیت

1- تست ریپید مرفین، فقط نتایج اولیه آنالیتی و کیفی فراهم می‌کند و متد ثانویه آنالیتی دیگری برای تایید نتایج باید به کار گرفته شود. کروماتوگرافی گازی / اسپکتروفتومتری (GC/MS) متد ترجیحی برای تایید نتایج این تست می‌باشد.

2- احتمال خطا در این روش یا تکنیک وجود دارد. همان طور که مواد مداخله کننده در نمونه ادرار ممکن است موجب نتیجه اشتباه گردد.

3- افزودن موادی مانند سفید کننده‌ها و یا زاج سفید در نمونه ادرار ممکن است علی‌رغم متد آنالیتی استفاده شده موجب نتیجه اشتباه گردد و اگر این مواد باقی بمانند، تست باید با نمونه ادرار دیگری انجام شود.

4- یک نتیجه مثبت نشان دهنده وجود مواد یا متابولیت‌های آن می‌باشد. یک نتیجه منفی ممکن است الزاماً نشان دهنده عدم وجود مواد در ادرار نباشد. ممکن است سطح دارو کمتر از سطح قابل ردیابی توسط تست باشد.

5- تست توانایی تشخیص سو، مصرف از موارد معین درمانی را ندارد.

+ مقادیر مورد انتظار : اگر غلظت مرفین کمتر از 300 ng/ml باشد، نتیجه منفی خواهد شد و اگر غلظت آن بیشتر از 300 ng/ml باشد، نتیجه مثبت خواهد بود. تست مرفین دارای 300 ng/ml Cut-off = می‌باشد.

ویژگی اجرایی

صحت: یک روش مقایسه ای وجه به وجه (side by side) با استفاده از نوار تست رپید مرفین و یک تست تجاری رپید مرفین در دسترس، انجام شد. تست بر روی 10 نمونه کلینیکی، که از قبل از افراد حاضر برای تست غربال مواد مخدر جمع آوری شده بود، انجام گردید.

Method	Other MOP Rapid Test		Total Result
	Positive	Negative	
The MOP Rapid Test	43	0	43
Dipstick	0	57	57
Total Result	43	57	100
%Agreement With this Rapid Test	>99.9%	>99.9%	>99.9%

مقایسه وجه به وجه (side by side) با استفاده از تست سریع مرفین و (GC/MS) در سطح 300 ng/ml انجام گردید.

تست بر روی 25 نمونه کلینیکی جمع آوری شده از موارد وجود مصرف مواد، انجام گردید که نتایج در جدول ذیل آمده است.

Method	GC/MS		Total Result
	Positive	Negative	
The MOP Rapid Test	95	7	102
Dipstick	5	143	148
Total Result	100	150	250
%Agreement With GC/MS	95.0%	95.3%	95.2%

حساسیت آنالیتیکی: حجمی از نمونه‌های ادراری فاقد دارو در غلظت‌های زیر از مرفین تهیه گردید.

150 ng/ml و 225 ng/ml و 300 ng/ml و 375 ng/ml و 450 ng/ml و 900 ng/ml ، نتایج، صحت بالاتر از 99 درصد را در 50 درصد نمونه‌ها با غلظت بالاتر از حد cut-off و 50 درصد با غلظت پایین‌تر از، cut off را نشان دادند.

Morphine Concentration (ng/ml)	Percent of Cut-off	n	Visual Result	
			Positive	Negative
0	0	30	30	0
150	-50%	30	30	0
225	-25%	30	26	4
300	Cut-off	30	15	15
375	+25%	30	3	27
450	+50%	30	0	30
900	3X	30	0	30

ویژگی آنالیتیکی: جدول زیر ترکیباتی که به صورت مثبت در نمونه ادرار در مدت زمان 5 دقیقه توسط نوار تست مرفین شناسایی شدند را نشان می‌دهد.

Compound	Concentration (ng/ml)	Compound	Concentration (ng/ml)
Codeine	200	Morphine	300
Ethylmorphine	6,000	Norcodeine	6,000
Hydrocodone	50,000	Normorphone	50,000
Hydromorphone	3,000	Oxycodone	30,000
Levorphanol	1,500	Oxymorphone	50,000
6-Monoacetylmorphine	300	Procaine	15,000
Morphine 3-β-D-glucuronide	800	Thebaine	6,000

دقت

مطالعه‌ای در سه سایت (کلینیک) مختلف توسط افراد آموزش ندیده با استفاده از سه لات مختلف محصول جهت ارزیابی دقت داخل مرحله‌ای، بین مرحله‌ای و بین فردی انجام گردید.

یک پنل از نمونه‌های کد گذاری شده حاوی غلظت مرفین معین بر اساس روش (GC/MS) در حد 250 ng/ml در صد بالا و پایین حد مینیمم تشخیص و 50 درصد بالا و پایین حد مینیمم تشخیص 300 ng/ml در هر مرکز استفاده شد.

Morphine Concentration (ng/ml)	n per site	Site A		Site B		Site C	
		-	+	-	+	-	+
0	10	10	0	10	0	10	0
150	10	10	0	10	0	10	0
225	10	9	1	9	1	9	1
375	10	1	9	1	9	2	8
450	10	0	10	0	10	0	10

اثر کشش مخصوص ادراری

به نمونه ادرار با وزن مخصوص کم، نرمال و بالا، مرفین با غلظت‌های 150 ng/ml و 450 ng/ml اضافه شد. سپس نمونه‌های خالص و نمونه‌های با غلظت مشخص مرفین توسط تست مرفین بررسی شدند. نتایج بیانگر عدم تاثیرگذاری وزن مخصوص بر نتایج آزمایش است.

اثر pH ادراری

pH نمونه منفی ادرار رقیق شده از رنج 5 تا 9 تغییر داده شد و به نمونه‌ها، غلظت‌های 150 ng/ml و 450 ng/ml از مرفین اضافه گردید. pH تنظیم شده ادرار با تست رپید مرفین در تکرار دو تایی (Duplicate) انجام گردید که نتایج نشان دهنده آن است که رنج pH با انجام تست تداخلی ندارد.

تداخل بین واکنشی

مطالعه‌ای جهت بررسی تداخلات با نمونه‌های مثبت و منفی مرفین انجام شد. ترکیبات زیر هیچ تداخل واکنشی با نتایج تست مرفین در غلظت $100 \mu\text{g/ml}$ را نشان نداد.

4-Acetamidophenol Creatinine Loperamide Prednisone Acetophenetidin Deoxycorticosterone Meprotiline Procaine N-Acetylprocainamide Dextromethorphan Mepidine Promazine Acetylsalicylic acid Diazepam Meprobamate Promethazine Aminopyrine Diclofenac Methadone

D,L-Propranolol Amitriptyline Diflunisal Methoxyphenamine D-Propoxyphene Amobarbital Digoxin (+) 3,4-Methylenedioxy- D-Pseudoephedrine Amoxicillin Diphenhydramine amphetamine Quinacrine Ampicillin Doxylamine 3,4-Methylenedioxyethyl- Quinidine L-Ascorbic acid Ecgonine hydrochloride amphetamine Quinine D-Amphetamine Ecgonine methylester Methylphenidate Ranitidine D,L-Amphetamine (1R,2S)-(-)-Ephedrine Morphine-3-D- Salicylic acid L-Amphetamine L-Epinephrine glucuronide Secobarbital Apomorphine (-)-ψ-Ephedrine Nalidixic acid Serotonin Aspartame Erythromycin Naloxone (5-Hydroxytyramine) Atropine -Estradiol Naltrexone Sulfamethazine Benzilic acid Estrone-3-sulfate Naproxen Sulindac Benzoic acid Ethyl-p-aminobenzoate Niacinamide Temazepam Benzoylcegonine Fenfluramine Nifedipine Tetracycline Benzphetamine Fenoprofen Norethindrone Tetrahydrocortisone, Bilirubin Furosemide D-Norpropoxyphene 3-Acetate- Brompheniramine Gentisic acid Noscapine Tetrahydrocortisone Caffeine Hemoglobin D,L-Octopamine 3-D glucuronide) Cannabidiol Hydralazine Oxalic acid Tetrahydrozoline Chloralhydrate Hydrochlorothiazide Oxazepam Thiamine Chloramphenicol Hydrocodone Oxolinic acid Thioridazine Chlordiazepoxide Hydrocortisone Oxycodone D, L-Tyrosine Chlorothiazide p-Hydroxyamphetamine Oxymetazoline Tolbutamine Chlorpheniramine O-Hydroxyhippuric acid Papaverine Trans-2- phenyl Chlorpromazine 3-Hydroxytyramine Penicillin-G cyclopropylamine Chloroquine Ibuprofen Pentobarbital Triamterene Cholesterol Imipramine Perphenazine Trifluoperazine Clomipramine Iproniazid Phencyclidine Trimethoprim Clonidine)-Isoproterenol Phenelzine Trimipramine Cocaine Isosuprine Phenobarbital Tryptamine Cocaine hydrochloride Ketamine Phentermine D, L-Tryptophan Codeine Ketoprofen L-Phenylephrine Tyramine Cortisone Labetalol ±Phenylethylamine Urlic acid (-) Cotinine Levorphanol Phenylpropanolamine Verapamil Prednisolone Zomepirac

منابع

1. Tietz NW. Textbook of Clinical Chemistry. W.B. Saunders Company. 1986; 1735
2. Baselt RC. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man. 2nd Ed. Biomedical Publ., Davis, CA. 1982; 488
3. Hawks RL, CN Chiang. Urine Testing for Drugs of Abuse. National Institute for Drug Abuse (NIDA), Research Monograph 73, 1986



کارخانه: شهرک صنعتی اشتهارد. بلوار ابوریحان بیرونی. بلوار غزالی غربی. خیابان لادن ۲
تلفن: ۸- ۳۷۷۷۵۵۳۱ (۰۲۴) **فکس:** ۳۷۷۷۵۵۲۹ (۰۲۴)

دفتر فروش: ۰۲۱ ۸۸۶۴۹۰۷۶ **خدمات پس از فروش:** ۰۹۱۲۹۴۰۹۱۲۴