

رپید تست مرفین (نوار تست)

Morphine Rapid Test (MOP) strip

Hana smart fast

شماره بروشور HG-DMO-111 REF

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 ایمنونوکروماتوگرافی عمل می‌نماید و حساسیت این تست 300 ng/mL می‌باشد (Cut off: 300 ng/mL).

این تست تنها فراهم‌کننده 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

مرفین یک ماده مخدر بسیار قوی است که با تاثیراتی که بر سیستم عصبی مرکزی می‌گذارد باعث ایجاد خاصیت ضد درد می‌شود. مصرف مرفین باعث توقف و کم‌شدن تاثیر درد بر سیستم عصبی بدن فرد مصرف‌کننده می‌شود. مصرف آن باعث ایجاد علائمی نظیر آرامش، خواب‌آلودگی، پایین آمدن حرارت بدن، تسکین درد و ... می‌شود. از آمپول مرفین در دردهای شدید استفاده می‌شود.

نحوه تزریق مرفین به صورت تزریق زیر پوستی، عضلانی و وریدی است اما تزریق مرفین به صورت وریدی را فقط در افرادی که سکنه قلبی کردند و درد خیلی زیادی دارند، انجام می‌دهند. مرفین بسیار اعتیادآور است و اگر بیماری ۲ تا ۳ بار مرفین تزریق کند، اعتیاد به مرفین ایجاد می‌شود. علائم اعتیاد به مرفین نیاز فیزیکی و روانی شدید به ادامه مصرف مرفین است. علائم اعتیاد به مرفین و محرومیت از آن ۶ تا ۸ ساعت بعد از قطع دارو شروع شده طی ۳۶ تا ۷۲ ساعت به حداکثر رسیده و سپس به تدریج طی ۷ تا ۱۰

01

روز فروکش می‌کند. این تست از آنتی‌بادی مونوکلونال برای تشخیص گزینشی سطح بالای مرفین در ادرار استفاده می‌کند. نوار تست رپید مرفین در صورتی مثبت می‌شود که سطح مرفین در ادرار به بالای 300 ng/mL برسد.

اساس روش

تست رپید مرفین یک روش ایمنونوکروماتوگرافی بر پایه اتصال رقابتی می‌باشد. داروهایی که در نمونه ادرار ممکن است یافت شوند با داروهای حاصل از متابولیک کبد برای اتصال به آنتی‌بادی‌ها در رقابت هستند. در طی آزمایش نمونه ادرار از طریق خاصیت موبیلیتی به سمت بالا حرکت می‌کند. اگر مرفین موجود در ادرار زیر 300 ng/mL باشد، آنتی‌بادی ضد مرفین کونژوگ شده با نانو ذرات طلا اشباع نشده و به آنتی‌ژن کووت شده در ناحیه تست متصل و از خود یک خط رنگی در ناحیه خط تست (T) بر جای خواهد گذاشت. چنانچه سطح مرفین بالای 300 ng/mL باشد، خط رنگی در ناحیه خط تست (T) ظاهر نخواهد شد زیرا همه محل‌های اتصال آنتی‌بادی‌های ضد 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 نشان‌دهنده حجم مناسبی از نمونه می‌باشد که به غشا افزوده شده است.

ترکیبات

نوار تست حاوی مرفین کووت شده به همراه آنتی‌بادی ضد مرفین کونژوگ به نانو ذرات طلا می‌باشد. آنتی‌بادی 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 انقضاء مصرف نشود. تست تا زمان استفاده باید در بسته‌بندی 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 بسته‌بندی شده در دمای اتاق یا یخچال نگهداری شود ($2-30^{\circ}\text{C}$). تست تا زمان تاریخ انقضای درج شده بر روی بسته معتبر می‌باشد. از یخ‌زدگی محافظت شود.

02

جمع‌آوری و آماده‌سازی نمونه

+ **جمع‌آوری ادرار:** نمونه ادرار باید در یک ظرف تمیز و خشک جمع‌آوری گردد، نمونه ادرار در هر زمان از روز می‌تواند جمع‌آوری گردد.

+ **نگهداری نمونه:** نمونه ادرار می‌تواند در دمای $2-8^{\circ}\text{C}$ برای بیشتر از ۴۸ ساعت نگهداری شود و برای ذخیره طولانی مدت نمونه‌ها می‌تواند در دمای 20°C فریز گردد. نمونه‌های فریز شده باید قبل از تست، ذوب و ترکیب گردد.

محتویات و لوازم مورد نیاز

مواد موجود در کیت: + بروشور + نوار تست
مواد مورد نیاز که در کیت وجود ندارد: + ظرف جمع‌آوری نمونه + تایمر

راهنمای استفاده

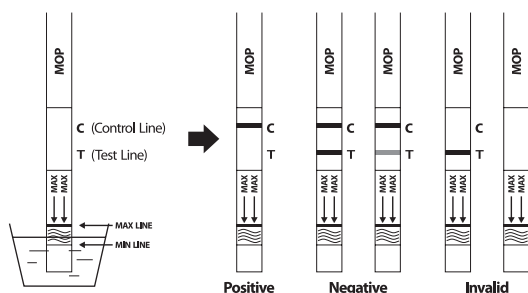
قبل از انجام آزمایش اجازه دهید نوار تست و نمونه ادرار به دمای اتاق برسد ($18-30^{\circ}\text{C}$).

• نوار تست را از پوشش آلومینیومی خارج کرده و تا حد امکان 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.

+ نتایج را بعد از ۱۰ دقیقه تفسیر نکنید.



03

تفسیر نتایج

منفی: دو خط آشکار می‌شود یک خط باید در ناحیه کنترل (C) و خط رنگی دیگر در ناحیه تست (T) ظاهر شود. نتیجه منفی نشان‌دهنده آن است که غلظت مرفین کمتر از سطح قابل ردیابی (300 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 نشان‌دهنده غلظت مرفین بالای سطح قابل ردیابی (300 ng/mL) می‌باشد.

نامعتبر: خط کنترل (C) تشکیل نمی‌شود. حتی اگر خط در ناحیه تست (T) تشکیل شده باشد، نتیجه نامعتبر است. حجم ناکافی نمونه یا روش اجرای نادرست آزمایش، شایع‌ترین علل عدم تشکیل خط کنترل (C) می‌باشند. مراحل کار را مجدداً بازبینی نموده و آزمایش 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

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

۲. احتمال خطا در این روش یا تکنیک وجود دارد. همان طور که مواد مداخله‌کننده در نمونه ادرار ممکن است موجب نتیجه اشتباه گردد.

۳. افزودن موادی مانند سفیدکننده‌ها و یا زاج سفید در نمونه ادرار، ممکن است موجب نتیجه اشتباه گردد و اگر این مواد باقی بمانند، تست باید با نمونه ادرار دیگری انجام شود.

04

دقت

مطالعه‌ای در سه مرکز 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 پیل از نمونه‌های کدگذاری شده حاوی غلظت مرفین معین بر اساس روش (GC/MS) در حد ۰ ng/mL، ۲۵ درصد بالا و پایین حد مینیمم تشخیص و ۵۰ درصد بالا و پایین حد مینیمم تشخیص ۳۰۰ ng/mL در هر مرکز استفاده شد.

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

اثر کشش مخصوص ادراری

به ۱۵ نمونه ادرار با وزن مخصوص کم، نرمال و بالا، 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 بیانگر عدم تاثیرگذاری وزن مخصوص بر نتایج آزمایش است.

اثر pH ادراری

pH نمونه منفی ادرار رقیق شده از رنج ۵ تا ۹ تغییر داده شد و به نمونه‌ها، غلظت‌های ۱۵۰ ng/mL و ۴۵۰ 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 ۱۰۰ µg/mL را نشان نداد.

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

۵. تست، توانایی تشخیص سوءمصرف از موارد معین درمانی را ندارد.

+ مقادیر مورد انتظار: اگر غلظت مرفین کمتر از ۳۰۰ ng/mL باشد، نتیجه منفی خواهد شد و اگر غلظت آن بیشتر از ۳۰۰ ng/mL باشد، نتیجه مثبت خواهد بود. تست مرفین دارای Cut off: 300 ng/mL می‌باشد.

ویژگی اجرایی

صحت: نتایج بدست آمده از نوار تست مرفین هانازن با نتایج بدست آمده از کیت دیگر تجاری در دسترس مقایسه شد. در مطالعه بر روی ۲۲۰ نمونه ادرار شامل ۱۱۰ نمونه مثبت و ۱۱۰ نمونه منفی، کیت هانازن ۱۱۰ نمونه را مثبت و ۱۰۹ نمونه را منفی شناسایی کرد. نتایج بدست آمده در جدول زیر ارائه شده است.

Method		HANAGENE Result		Total Result
The MOP Rapid Test Dipstick	Results	Positive	Negative	
	Positive	110	1	111
	Negative	0	109	109
Total Result		110	110	220
Sensitivity: > 99% (96.7 % ~ 100%)		Specificity: 99.0% (95.0% ~ 99.98%)		
Accuracy: 99.55% (97.2% ~ 99.8%)		95% Confidence Intervals		

به منظور مقایسه نتایج کیت تشخیص سریع مرفین هانازن با روش (TLC) ۲۸۰ نمونه کلینیکی (۱۳۶ نمونه مثبت و ۱۴۴ نمونه منفی) جمع‌آوری شد، که کیت هانازن ۱۳۳ نمونه را مثبت و ۱۳۸ نمونه را منفی شناسایی کرد. نتایج در جدول زیر ارائه شده است.

Method		TLC		Total Result
The MOP Rapid Test Dipstick	Results	Positive	Negative	
	Positive	133	6	139
	Negative	3	138	141
Total Result		136	144	280
Sensitivity: > 97.7%		Specificity: 95.8%		
Accuracy: 96.8%		95% Confidence Intervals		

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

۰ ng/mL و ۱۵۰ ng/mL و ۲۲۵ ng/mL و ۳۰۰ ng/mL و ۳۷۵ ng/mL و ۴۵۰ ng/mL و ۹۰۰ ng/mL. نتایج، صحت بالاتر از ۹۹ درصد را در ۵۰ درصد نمونه‌ها با غلظت بالاتر از حد Cut-off و ۵۰ 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	0	30
150	-50%	30	0	30
225	-25%	30	9	21
300	Cut-off	30	26	4
375	+25%	30	29	1
450	+50%	30	30	0

ویژگی آنالیتیکی: جدول زیر ترکیباتی که به صورت مثبت در نمونه ادرار در مدت زمان ۵ 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	Normorphine	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

07

4-Acetamidophenol Creatinine Loperamide Prednisone Acetophenetidin Deoxycorticosterone Maprotiline Procaine N-Acetylprocainamide Dextromethorphan Meperidine Promazine Acetylsalicylic acid Diazepam Meprobamate Promethazine Aminopyrine Diclofenac Methadone D,L-Propanolol 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 (-)-Ephedrine Nalidixic acid Serotonin Aspartame Erythromycin Naloxone (5-Hydroxytyramine) Atropine -Estradiol Naltrexone Sulfamethazine Benzilic acid Estrone-3-sulfate Naproxen Sulindac Benzoic acid Ethyl-paminobenzoate Niacinamide Temazepam Benzoylcegonine Fenfluramine Nifedipine Tetracycline Benzphetamine Fenoprofen Norethindrone Tetrahydrocortisone, Bilirubin Furosemide D-Norpropoxyphene 3-Acetate -Brompheniramine Gentisic acid Noscipine 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 Chlorquine Ibuprofen Pentobarbital Triamterene Cholesterol Imipramine Perphenazine Trifluoperazine Clomipramine Iproniazid Phencyclidine Trimethoprim Clonidine Isoproterenol Phenelzine Trimipramine Cocaethylene Isoxsuprine Phenobarbital Tryptamine Cocaine hydrochloride Ketamine Phentermine D, L-Tryptophan Codeine Ketoprofen L-Phenylephrine Tyramine Cortisone Labetalol ±Phenylethylamine Uric 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: کیلومتر ۵ آزادراه کرج - قزوین، شهرک صنعتی بهارستان، خیابان گلستان پنجم، پلاک ۱۱۹

تلفن: ۰۲۶ ۳۶۱۸ ۱۰۰۰

خدمات پس از فروش: ۰۹۹۳ ۳۲۱ ۲۲۰۷

ایمیل: info@hanagene.com

www.hanagene.com

06