

تست رپید ترامادول

Teramadol Rapid Test (TML) strip



REF	HG-DTM-101	شماره بروشور
-----	------------	--------------

مقدمه

این تست جهت تشخیص کیفی ترامادول 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 ۱۰۰ ng/mL می‌باشد (Cut off: 100 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

ترامادول یک داروی اپیوئید است؛ که برای تسکین دردهای شدید تا متوسط تجویز می‌شود. مکانیسم عملکرد آن به دو گونه است: اول اینکه مانند دیگر داروهای اپیوئید (مشتقات تریاک) آگونیست گیرنده‌های مو (μ) است. در وهله دوم باعث جلوگیری از بازجذب نورآدرنالین و سروتونین می‌شود و غلظت این دو ماده را در سیناپس بالا می‌برد، این امر باعث ایجاد نوعی خاصیت، مانند داروهای ضدافسردگی و همچنین هوشیاری می‌شود و برعکس مرفین فرد مصرف‌کننده را فعال‌تر می‌کند. مصرف مداوم دزهای بالای ترامادول می‌تواند باعث مقاومت دارویی و وابستگی فیزیولوژیک شده و در نهایت منجر به اعتیاد گردد. ترامادول به طور عمده بعد از مصرف به صورت خوراکی متابولیزه می‌شود. ۳۰ درصد ترامادول به صورت تغییر نیافته و ۶۰ درصد آن به صورت متابولیت‌های شکسته شده در کبد از طریق ادرار دفع می‌شود. نیمه عمر ترامادول در سرم حدود ۶ تا ۷ ساعت و غلظت آن ۰/۳ - ۰/۱ است. مطالعات نشان می‌دهد که غلظت ترامادول در ادرار بیشتر از سرم است، لذا نمونه ادرار برای اثبات مصرف ترامادول مناسب‌تر است.

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.

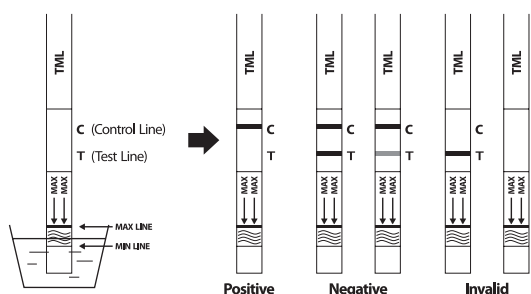
+ **نگهداری نمونه:** نمونه ادرار می‌تواند در دمای ۲-۸°C برای بیشتر از ۴۸ ساعت نگهداری شود و برای ذخیره طولانی مدت در دمای ۲۰°C فریز گردد. نمونه‌های فریز شده باید قبل از تست، ذوب و ترکیب گردد.

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°C).
- نوار تست را از پوشش آلومینیومی جدا 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. این نتیجه منفی نشان‌دهنده آن است که غلظت ترامادول کمتر از سطح قابل ردیابی (۱۰۰ 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. پاسخ مثبت نشان‌دهنده غلظت ترامادول بالای سطح قابل ردیابی (۱۰۰ ng/mL) می‌باشد.

نامعتبر: 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 تاییدکننده 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 ترامادول، 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 علی‌رغم متد آنالیتی استفاده شده موجب نتیجه اشتباه گردد و اگر این مواد باقی بمانند، تست باید با نمونه ادرار دیگری انجام شود.

04

اساس روش

تست رپید ترامادول یک روش ایمنونوکروماتوگرافی بر پایه اتصال رقابتی می‌باشد. داروهایی که در نمونه ادرار یافت شوند با داروهای حاصل از متابولیک کبد برای اتصال به آنتی‌بادی‌ها در رقابت هستند. در طی آزمایش نمونه ادرار از طریق خاصیت موبینگی به سمت بالا حرکت می‌کند. اگر ترامادول موجود در ادرار زیر ۱۰۰ ng/mL باشد محل‌های اتصال به ذرات پوشیده شده از آنتی‌بادی را در تست پر نمی‌کند، آنتی‌بادی که بر روی ذرات موجود است به وسیله ترامادول موجود در ممبران جذب خواهد شد و از خود یک خط رنگی در ناحیه خط تست (T) برای خواهد گذاشت. چنانچه سطح ترامادول بالای ۱۰۰ ng/mL باشد، خط رنگی در ناحیه خط تست (T) ظاهر نخواهد شد. زیرا همه محل‌های اتصال آنتی‌بادی‌های ترامادول را اشغال می‌کند. اگر وجود ترامادول 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 ترامادول 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 ذرات متصل به آنتی‌بادی مونوکلونال ضد ترامادول و ترکیب پروتئین - ترامادول کنژوگه شده 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°C). تست تا زمان تاریخ انقضای درج شده بر روی بسته معتبر می‌باشد. از یخ‌زدگی محافظت شود.

02

اثر کشش مخصوص ادراری

به ۱۵ نمونه ادرار با وزن مخصوص کم، نرمال و بالا، ترامادول با غلظت‌های ۵۰ ng/mL و ۱۵۰ ng/mL اضافه شد. سپس نمونه‌های خالص و نمونه‌های با غلظت مشخص ترامادول توسط تست ترامادول 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 ۵۰ ng/mL و ۱۵۰ ng/mL از ترامادول اضافه گردید. pH تنظیم شده ادرار با تست ریپد ترامادول در تکرار دو تایی (Duplicate) انجام گردید که نتایج نشان‌دهنده آن است که رنج pH با انجام تست تداخلی ندارد.

تداخل بین واکنشی

مطالعه‌ای جهت بررسی تداخلات با نمونه‌های مثبت و منفی ترامادول انجام شد. ترکیبات زیر هیچ تداخل واکنشی با نتایج تست ترامادول در غلظت ۱۰۰ µg/mL را نشان نداد.

4-Acetaminophenol	Acetone	Acetophenetidin	N-Acetylprocainamide
Acetylsalicylic acid	Albumin	Amitriptyline	Amobarbital
Amoxapine	Amoxicillin	Ampicillin	Ascorbic acid
Aminopyrine	Apomorphine	Aspartame	Atropine
Benzilic acid	Benzoic acid	Benzphetamine	Bilirubin
Brompheniramine	Buspirone	Caffeine	Cannabidiol
Cannabinal	Cimetidine	Chloralhydrate	Chloramphenicol
Chlordiazepoxide	Chloroquine	Chlorothiazide	(+)-Chlorpheniramine
(+/-)-Chlorpheniramine	Chlorpromazine	Chlorprothixene	Cholesterol
Clomipramine	Clonidine	Codeine	Cortisone
(-) Cotinine	Creatinine	Cyclobarbitol	Cyclobenzaprine
Deoxycorticosterone	(-) Deoxyephedrine	R (-) Deprenyl	Dextromethorphan
Diazepam	Diclofenac	Diffunisal	Digoxin
4-Dimethylaminoantipyrine	Diphenhydramine	Dicyclomine	5,5-Diphenylhydantoin
Disopyramide	Doxylamine	Ecgonine	Ecgonine Methylester
EDDP	EMDP	Ephedrine	l-Ephedrine
(-) -W-Ephedrine	(1R,2S) (-) Ephedrine	l-Epinephrine	(+/-)-Epinephrine
Erythromycin	β-Estradiol	Estrone-3-sulfate	Ethanol (Ethyl alcohol)
Ethyl-p-aminobenzoate	Etodolac	Famprofazone	Fenfluramine
Fenoprofen	Fentanyl	Fluoxetine	Furosemide
Genitisc acid	d-Glucose	Guaiacol Glyceryl Ether	Hydrochlorothiazide
Hemoglobin	Hydralazine	Hydromorphone	Hydrocodone
Hydrocortisone	3-Hydroxytyramine (Dopamine)	o-Hydroxyhippuric acid	p-Hydroxymetham-phetamine
Imipramine	Hydroxyzine	Ibuprofen	Isoxsuprine
Ipreniazide	(-) Isoproterenol	Ketoprofen	Kanamycin
Ketamine	Lidocaine	Labetalol	Levorphanol
Loperamide	Lithium Carbonate	Meperidine	Methamphetamine

۴. یک نتیجه مثبت نشان‌دهنده وجود مواد یا متابولیت‌های آن می‌باشد. یک نتیجه منفی ممکن است الزاما 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 ترامادول کمتر از ۱۰۰ ng/mL باشد، نتیجه منفی خواهد شد و اگر غلظت آن بیشتر از ۱۰۰ ng/mL باشد، نتیجه مثبت خواهد بود. تست ترامادول دارای Cut off: 100 ng/mL می‌باشد.

ویژگی اجرایی

صحت: به منظور مقایسه نتایج کیت تشخیص سریع ترامادول هانازن با روش (GC/MS) ۲۵۰ نمونه کلینیکی (۹۳ نمونه مثبت و ۱۵۷ نمونه منفی) جمع‌آوری شد، که کیت هانازن ۸۲ نمونه را مثبت و ۱۴۵ نمونه را منفی شناسایی کرد. نتایج در جدول زیر ارائه شده است.

Method	GC/MS		Total Result
	Results	Positive	Negative
	Positive	82	12
The TML Rapid Test Dipstick	Negative	11	145
Total Result		93	157
Sensitivity: 88.1% (79.8 % ~ 93.0%)		Specificity: 92.3% (87.0% ~ 95.9%)	
Accuracy: 90.8% (86.5% ~ 94.0%)		95% Confidence Intervals	

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

۰ ng/mL و ۵۰ ng/mL و ۷۵ ng/mL و ۱۰۰ ng/mL و ۱۲۵ ng/mL و ۱۵۰ ng/mL و ۳۰۰ 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.

05

TML Concentration (ng/mL)	Percent of Cut-off	n	Visual Result	
			Negative	Positive
0	0	30	30	0
50	-50%	30	30	0
75	-25%	30	27	3
100	Cut-off	30	15	15
125	+25%	30	4	26
150	+50%	30	0	30
300	3X	30	0	30

ویژگی آنالیتیکی: جدول زیر ترکیباتی که به صورت مثبت در نمونه ادرار در مدت زمان ۵ دقیقه توسط نوار تست ترامادول شناسایی شدند را نشان می‌دهد.

Compound	Concentration (ng/mL)	Compound	Concentration (ng/mL)
n-Desmethyl-cis-tramadol	200	o-Desmethyl-cis-tramadol	10,000
Cis-tramadol	100	Phencyclidine	100,000
Procyclidine	100,000	d,l-O-Desmethyl venlafaxine	50,000

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 پتل از نمونه‌های کدگذاری شده حاوی غلظت ترامادول معین بر اساس روش (GC/MS) در حد ۲۵، ۱۰۰ ng/mL و ۲۵۰ ng/mL و پایین حد مینیمم تشخیص و ۵۰ درصد بالا و پایین حد مینیمم تشخیص ۱۰۰ ng/mL در هر مرکز استفاده شد.

Tramadol Concentration (ng/mL)	n per site	Site A		Site B		Site C	
		-	+	-	+	-	+
0	10	10	0	10	0	10	0
50	10	10	0	10	0	10	0
75	10	9	1	9	1	8	2
125	10	1	9	1	9	2	8
150	10	0	10	0	10	0	10

06

07

Meprobamate	Lindane (Hexachlorocyclohexane)	Methylphenidate	Mephentermine
l-Methamphetamine	Maprotiline	Morphine sulfate	Naloxone
Methoxyphenamine	Methadone	Naproxen	Naltrexone
Methypyrrol	Metoprolol	Niacinamide	Nifedipine
Nalidixic acid	(+)-3,4-Methylenedioxy-	Perphenazine	Trimipramine
methamphetamine	Nimesulide	d,l-Octopamine	Tryptamine
α-Naphthaleneacetic acid	Morphine-3-β-D Glucuronide	Oxazepam	Orphenadrine
Norethindrone	Nalorphine	Oxolinic acid	Oxycodone
d-Norpropoxyphene	Norcodeine	Pemoline	Pentobarbital
Oxalic acid	Normorphine	Phenelzine	Perphenazine
Oxymorphone	Noscapine	Pheniramine	Phenobarbital
Penicillin-G	Oxymetazoline	l-Phenylephrine	Promazine
Prednisolone	Papaverine	d,l-Propranolol	Promethazine
Prednisone	Pentazocine	d-Pseudoephedrine	Quinacrine
l-Propoxyphene	Phenothiazine	Ranitidine	Salicylic acid
Riboflavin	Phentermine	Secobarbital	Sodium Chloride
Sulindac	Procaine	Sustiva (Efavirenz)	Temazepam
Tetracycline	Quinidine	Tetrahydrocortisolone	Thiamine
Tolbutamide	Quinine	Thebaine	Theophylline
Trimethobenzamide	Serotonin (5-Hydroxytyramine)	l-Thyroxine	Trazodone
Trimipramine	Sulfamethazine	Tryptamine	Trifluoperazine
d,l-Tyrosine	Tetrahydrozoline	d,l-Tryptophan	Trimethoprim
Zomepirac	Tetrahydrocortisone, 3-acetate	Verapamil	Tyramine
Uric acid	Trans-2-phenylcyclopropylamine	Thioridazine	Triamterene

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: ۰۲۰۷ ۳۲۱ ۹۹۳

ایمیل: info@hanagene.com

www.hanagene.com