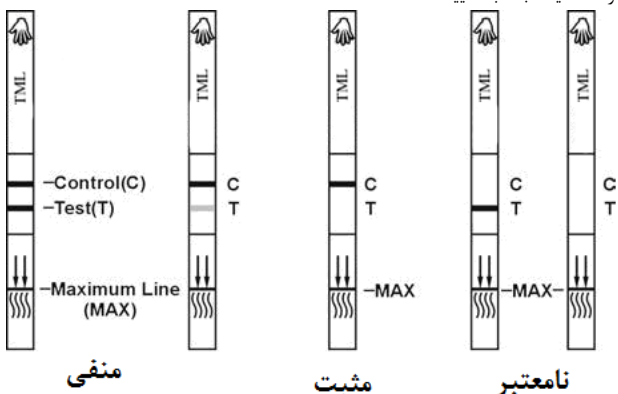


۲- نوار تست را از جهتی که فلشها نشان می‌دهند به طور عمودی تا خط ماگزیمم (MAX) وارد نمونه ادرار کنید و حداقل به مدت ۱۵-۱۰ ثانیه نگه دارید(شکل ۱)

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.



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 ترامادول 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 ترامادول در ادرار بالاتر از سطح قابل ردیابی 100 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 .

کنترلتهای 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.

مواد واکنش دهنده

نوار تست حاوی ذرات متصل به آنتی بادی مونوکلونال ضد ترامادول و ترامادول 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 $8-2^{\circ}\text{C}$ 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.

تست سریع ترامادول روزان

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

کاربرد

این تست یک روش ایمنونواسی کروماتوگرافیک برای تشخیص ترامادول در ادرار با غلظت پایین در حد 100 ng/ml می‌باشد. 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

ترامادول یک داروی مسکن شبیه تریاک است و یک نوع ایپولید به حساب می‌آید. این دارو برای تسکین دردهای شدید تا متوسط تجویز می‌شود. مکانیسم دقیق عملکرد آن معلوم نیست اما دو مسیر مکمل برای آن پیش بینی می‌شود: تمایل اتصال پایین برای اتصال به گیرنده‌های مو (μ) اوپیوئید و مهار برداشت نوراپی نفرین و سروتونین . 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. 30% ترامادول به صورت تغییر یافته و 60% آن به صورت متابولیست‌های شکسته شده در کبد از طریق ادرار دفع می‌شود. نیمه عمر ترامادول در سرم حدود ۷-۶ ساعت و غلظت آن $0.3 - 0.1 \text{ ml}$ است. مطالعات نشان می‌دهد که غلظت ترامادول در ادرار بیشتر از سرم است لذا نمونه ادرار برای اثبات مصرف ترامادول مناسب تر 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 مویبینگی به سمت بالا حرکت می‌کند. اگر ترامادول در سطوح کمتر از 100 ng/ml در ادرار وجود داشته باشد، آنتی بادهای متصل به ذرات کلونیدی طلا متوقف شده در خط تست را اشباع نمی‌کنند. در نتیجه ذرات پوشیده از آنتی بادی با ترامادول کنژوگه شده جفت می‌شوند و یک خط رنگی قابل رویت در منطقه تست ایجاد می‌کنند. در صورتی که سطح ترامادول بیشتر یا مساوی 100 ng/ml باشد، خط رنگی در ناحیه تست ایجاد نخواهد شد. زیرا تمام گیرنده‌های آنتی بادهای ضد ترامادول 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 بیابگر اضافه شدن مقدار کافی نمونه می‌باشد.

ترکیبات بدون تداخل

مطالعه‌ای جهت بررسی تداخلات با نمونه‌های منفی و مثبت ترامادول انجام شد. ترکیبات زیر تداخلی با نتایج تست ترامادول در غلظت $100 \mu\text{g/ml}$ ندارند.

Acetaminophen	Egonine	Morphine
4-Acetamidophenol	Egoninemethyl ester	Neomycin
Acetylsalicylic acid	Ephedrine	Niacinamide
Amikacin	Epinephrine	Oxazepam
Amitriptyline	Gentisic	Perphenazine
Amobarbital	Guaiacolglycer ester	Penicillin G
Amphetamine	Histamine	Phencyclidine
Arterenol	Hydrochlorothiazide	Phenylethylamine- α
Aspartame	Homatrophine	Phenylpropanolamine
Ascorbic acid	Imipramine	Promethazine
Atrophine	Ibuprofen	Pseudoephedrin
Caffeine	Isoproterenol	Quinine antidine
Camphor	Ketamine	Salicylic acid
Chloroquine	Lidocaine	Tetracycline
Chlopheniramine	Meperidine	Tetrahydrozolin
Codeine	Methadone	Theophylline
Cortisone	Methamphetamine	11-nor- Δ^8 -THC-9-COOH
Deoxvephedrine	3,4-MDMA	11-nor- Δ^8 -THC-9-COOH
Dextromethorphan	Methaqualone	Thioridazine
Digitoxin	Methylphenidate	Trifluoperazine
Digoxin		Tryptophan
Diphenhydramine		Tyramine

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
	یکبار مصرف

کیلومتر ۵ بزرگراه کرج- قزوین شهرک صنعتی بهارستان گلستان چهارم بلاک 40

حساسیت

به یک نمونه ادرار بدون دارو، غلظتهای زیر از ترامادول اضافه شد: 50 ng/ml ، 75 ng/ml ، 100 ng/ml ، 125 ng/ml ، 150 ng/ml . نتایج صحت $< 99\%$ در 50% نمونه‌های با غلظت بالاتر از حد مینیمم و 50% با غلظت پایین تر از حد مینیمم را نشان دادند

غلظت ترامادول (ng/ml)	درصد تشخیص	تعداد	نتایج چشمی مثبت منفی	
0	0%	30	30	0
50	50%	30	30	0
75	25%	30	20	10
100	حد مرزی	30	13	17
125	25%+	30	8	22
150	50%+	30	0	30

ویژگی

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

Drug Concentration (ng/ml)

Tramadol	100
N-desmethyl-tramadol	250
O-desmethyl-tramadol	10,000

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 250 ng/ml و بالا و پایین حد مینیمم تشخیص و 300 mg/ml در هر مرکز استفاده شد.

غلظت ترامادول (ng/ml)	تعداد	جایگاه A		جایگاه B		جایگاه C	
		-	+	-	+	-	+
0	15	15	0	15	0	15	0
50	15	15	0	15	0	14	1
100	15	13	2	11	4	11	4
125	15	6	9	4	11	4	11
150	15	2	13	1	14	1	14

محدودیتها

۱- این تست فقط یک نتیجه کیفی و ابتدایی را فراهم می‌کند. یک روش بررسی ثانویه برای تشخیص قطعی ضروری است. روش کروماتوگرافی گازی/بهره همراه اسپکتروسکوپی جرمی (GC/MS) تست ارجح تأییدی است.

۲- امکان دارد که روش نادرست کار یا اشتباه تکنیکی، همانند وجود مواد تداخل کننده در نمونه ادرار منجر به نتیجه کاذب شوند.

۳- قلب، 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 قلب، باید تست با نمونه ادرار جدید تکرار شود.

۴- نتیجه مثبت بیانگر وجود دارو یا متابولیت‌های آن می‌باشد. اما مسمومیت، روش مصرف یا غلظت ادراری آن را نشان نمی‌دهد.

۵- نتیجه منفی الزاماً بیانگر عدم وجود دارو در ادرار نیست. ممکن است سطح دارو کمتر از سطح قابل ردیابی توسط تست باشد.

۶- 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 ترامادول در دسترس انجام شد. سپس نتایج مثبت با GC/MS تأیید شدند که نتایج زیر به دست آمد.

نتایج	یک ترامادول تست دیگر		نتایج تست نواری ترامادول روزان
	مثبت	منفی	
127	126	1	نتایج مثبت
165	0	165	نتایج منفی
292	126	166	نتایج کلی
$> 99\%$	$> 99\%$	$> 99\%$	درصد موفقیت

جدول مقایسه تست در غلظت 100 ng/ml با GC/MS

نتایج	GC/MS		نتایج تست نواری ترامادول روزان
	مثبت	منفی	
141	132	9	نتایج مثبت
159	4	155	نتایج منفی
300	136	164	نتایج کلی
$> 95\%$	$> 97\%$	$> 95\%$	درصد موفقیت