



جمهوری اسلامی ایران

وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی

معاونت سلامت

آزمایشگاه مرجع سلامت

اداره مدیریت آزمایشگاههای بهداشتی

دستورالعمل فرآیندهای

**آزمایشگاه تشخیص اعتیاد به مواد مخدر**

مهر 1387

## فهرست مطالب

عنوان	صفحه
1 - مقدمه.....	4
2- پذیرش.....	4
3- مشخصات برگه درخواست آزمایش.....	4
4- پذیرش.....	4
5- آمادگی مراجعه کننده برای آزمایش.....	5
6- مکان نمونه گیری.....	6
7- نمونه گیری.....	6
8- مراحل بعد از نمونه گیری.....	6
9- نگهداری نمونه ها.....	7
10- مشخصات برگه نتیجه آزمایشگاه.....	8
11- روشهای تشخیص مواد مخدر.....	8
○ روشهای شیمیایی.....	8
○ روشهای کروماتوگرافی.....	9
○ کروماتوگرافی روی کاغذ (PC) Paper Chromatography.....	9
○ کروماتوگرافی روی لایه نازک (TLC) Thin Layer Chromatography.....	9
○ کروماتوگرافی گازی (GC) Gas Chromatography.....	10
○ کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) High Performance Liquid Chromatography.....	11
○ روشهای ایمنولوژیک.....	11
12- روش ایمنو کروماتو گرافی (Immuno chromatography).....	12
13- نحوه آزمایش تشخیص مواد مخدر درادرار.....	12
14 - کنترل کیفیت.....	13

## فهرست مطالب

صفحه	عنوان
14.....	15- مواردی از منابع خطا.....
14.....	16- رعایت اصول ایمنی در آزمایشگاه تشخیص مواد مخدر.....
15.....	17- فضای فیزیکی.....
16.....	18- تجهیزات بخش تشخیص مواد مخدر.....
16.....	19- کنترل و نگهداری تجهیزات.....
16.....	20- نیروی فنی مورد نیاز.....

## دستورالعمل فرآیندهای آزمایشگاه تشخیص اعتیاد به مواد مخدر

### مقدمه

با توجه به رسالت وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی در امر تشخیص، درمان و پیشگیری از اعتیاد، قانونگذار به استناد ماده 23 لایحه تشدید مجازات مرتکبین جرائم مواد مخدر مصوب 1359/3/19، صدور گواهی عدم اعتیاد در تمام موارد اعم از افراد ارجاعی نیروی انتظامی، دادگاههای انقلاب اسلامی، ازدواج و استخدام را بعهده وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی قرار داده است. از اینرو آزمایشگاههای تشخیص مواد مخدر از جایگاه ویژه‌ای در نظام سلامت و مراجع قضایی کشور برخوردار بوده و با توجه به اینکه نتایج ارائه شده، مورد استناد مراجع قضایی و حقوقی قرار گرفته و بر حقوق شهروندی افراد تأثیر مستقیم دارد، تدوین دستورالعمل و رعایت آن در این آزمایشگاهها از اهمیت بسیار بالایی برخوردار می‌باشد.

آزمایش تشخیص اعتیاد به مواد مخدر و جستجوی مرفین در نمونه‌های بیولوژیک سه هدف عمده ذیل را دنبال می‌کند:

- 1- ارزیابی مقادیر درمانی در بیماران (TDM) و بررسی غلظت مرفین در مطالعات فارماکوکینتیک حیوانی و انسانی.
- 2- بررسی اعتیاد به مواد مخدر نظیر مرفین، هروئین و تریاک برای اهداف تشخیصی، اپیدمیولوژیک و کنترل اعتیاد.
- 3- تحقیق در مورد علل مسمومیت یا مرگ در موارد بالینی، پاتولوژیک یا جنایی.

### فرآیندهای آزمایشگاه تشخیص مواد مخدر

#### مشخصات برگه درخواست آزمایش

برگه درخواست آزمایش باید شامل موارد زیر باشد:

۱) سربرگ رسمی سازمان، ارگان، اتحادیه صنفی، شرکتهای، ادارات دولتی، دفتر اسناد رسمی، قوه قضائیه و نیروی انتظامی و غیره.

۲) نشانی سازمان درخواست کننده آزمایش و شماره تلفن تماس.

۳) نام و نام خانوادگی، سمت، امضاء مسئول و مهر سازمان درخواست کننده.

۴) الصاق عکس فرد آزمایش شونده به برگه درخواست و ممهور بودن آنها با مهر سازمان درخواست کننده.

#### پذیرش

نکاتی که در مرحله پذیرش مراجعین جهت انجام آزمایش تشخیص اعتیاد به مواد مخدر می‌باید مورد نظر قرار گیرد به شرح ذیل می‌باشد.

۱) ارائه معرفی نامه عکس دار و ممهور به مهر دفترخانه ازدواج، دادگاهها، نیروی انتظامی، کارگزینی ادارات، شرکتهای و



اتحادیه‌های صنفی که به نحوی دارای مجوز قانونی جهت فعالیت می‌باشند.

ü ثبت مشخصات مراجعین ، شماره نامه ، تاریخ معرفی نامه و ارگان ارجاع دهنده در سیستم نرم‌افزاری رایانه‌ای و ارائه قبض جوابدهی با تاریخ مشخص.

ü تأیید هویت افراد توسط مسئول نمونه گیری با معرفی نامه ارائه شده.

ü ثبت شماره پذیرش و یا کد بر روی ظرف نمونه‌گیری.

ü معرفی نامه ها، دفتر ثبت مشخصات مراجعین، جوابه‌های ثبت شده در کامپیوتر حد اقل تا دوسال نگهداری شوند.

### آمادگی مراجعه کننده برای آزمایش

باید فرد نمونه دهنده در حد اقل سه روز قبل از آزمایش از مصرف قرصهای کدئین دار خود داری نماید و در صورت امکان (در صورتی که برای سلامتی وی خطری ایجاد نکند) از مصرف داروهای سایمتیدین، رانیتیدین و ... خود داری کرده و یا مصرف آنها را به آزمایشگاه اطلاع دهد.

### مکان نمونه‌گیری

محل نمونه‌گیری از مهمترین قسمت‌های آزمایشگاه تشخیص اعتیاد به مواد مخدر می‌باشد و در صورت رعایت استانداردها می‌تواند موجب منزلت ارباب رجوع ، سهولت و دقت در نمونه‌گیری را فراهم آورد و باعث جلوگیری از بروز بسیاری از مداخلات (تقلیها) در هنگام نمونه‌گیری شود. در نتیجه محل نمونه‌گیری بایستی دارای خصوصیات ذیل می‌باشد:

ü بخش نمونه‌گیری ادرار از نور و تهویه کافی برخوردار باشد.

ü محلی مجزا از سرویس‌های بهداشتی عمومی و فقط مختص نمونه‌گیری آزمایشگاه تشخیص اعتیاد به مواد مخدر باشد.

ü کف و دیوارهای محل نمونه‌گیری قابل شستشو و بهداشتی باشد.

ü ترجیها جهت جلوگیری از آلودگی ناشی از ترشحات ادرار در هنگام نمونه‌گیری آقایان از سرویس‌های بهداشتی دیواری استفاده شود.

ü استفاده از سیستم مدار بسته جهت نظارت بر نمونه‌گیری به منظور حفظ بیشتر شئون اخلاقی و اسلامی در اولویت قرار دارد.

ü دوربین‌ها باید در محل نمونه‌گیری به گونه‌ای نصب شوند که بهترین دید را داشته و نقطه کور نداشته باشد.

ü ترجیها از ظروف در پیچ دار جهت نمونه‌گیری استفاده شود تا امکان اضافه نمودن مواد به آن به حد اقل برسد. (در فاصله زمانی ماندن نمونه در محل نمونه‌گیری و انتقال آن).

ü امکان دسترسی افراد متفرقه در محل نمونه‌گیری به نمونه‌های گرفته شده وجود نداشته باشد.

ü ترجیها مکان نمونه‌گیری در نزدیکترین فاصله به محل انجام آزمایش باشد.

### نمونه‌گیری

نمونه‌گیری ادرار جهت آزمایش مواد مخدر از اهمیت زیادی برخوردار بوده و باید در حضور ناظر مستقیم معتمد و یا تحت نظارت دوربین‌های مدار بسته صورت گیرد، مانیتور باید در محلی محفوظ قرار داده شود که بجز پرسنل مسئول از ورود و رویت افراد غیرمسئول جلوگیری شود تا منزلت مراجعین حفظ گردد.

ü یک ظرف در پیچ‌دار پلاستیکی یکبار مصرف که با کد و شماره مشخص گردیده به فرد مورد آزمایش داده شود.

ü نمونه‌گیر باید مشخصات فرد را با برگه معرفی‌نامه مطابقت نماید. (صلاحیت اخلاقی و امین بودن نمونه‌گیر باید توسط مسئول آزمایشگاه به اثبات رسیده باشد).

ü در صورت هرگونه شک به فرد نمونه‌دهنده استفاده از روشهای پیشگیری از تقلب مانند بازرسی بدنی، شستشوی دستها پیش از نمونه‌گیری، و غیره نیز توصیه می‌شود.

ü در محل نمونه‌گیری حتماً جالباسی نصب باشد تا نمونه‌دهنده وسایل اضافی مانند پالتو، کت و کیف خود را در آن قرار دهد و با خود به محل نمونه‌گیری نبرد.

ü مایع صابون و آب در محلی باشد که امکان افزودن آن به نمونه وجود نداشته باشد.

ü نمونه گرفته شده بلافاصله باید توسط ناظر از نمونه‌دهنده تحویل گرفته و به مکان مناسب و مطمئن انتقال داده شود. تا امکان جا بجایی و یا افزودن مواد خارجی به نمونه وجود نداشته باشد.

ü نمونه‌گیر باید مطمئن شود که نمونه مستقیماً از فرد نمونه‌دهنده، به داخل ظرف نمونه‌گیری ریخته شود.

ü نمونه‌ها تا قبل از انجام آزمایش و تحویل به آزمایشگاه می‌باید زیر نظر نمونه‌گیر بوده و امکان دسترسی افراد متفرقه به آن وجود نداشته باشد. بدیهی است ناظر نمونه‌گیری باید در تمام مراحل مراقب هر گونه تقلب احتمالی اعم از افزودن مواد به نمونه، جاسازی نمونه و ... باشد.

### مراحل بعد از نمونه‌گیری

نمونه‌گیر باید مطمئن شود حجم نمونه ادرار جهت انجام آزمایش غربالی و تائیدی (جهت انجام آزمایش کروماتوگرافی) کافی باشد و حجم آن دو برابر مقدار مورد نیاز برای آزمایش کروماتوگرافی باشد تا در صورت نیاز به تکرار آزمایش، امکان تکرار با آن نمونه وجود داشته باشد.

ü در صورت شک به نحوه نمونه‌گیری، بهتر است دمای نمونه توسط دماسنج دیجیتالی اندازه‌گیری و ثبت شود، این

عمل باید حداکثر تا 4 دقیقه پس از نمونه‌گیری انجام شده و دمای نمونه باید بین 33 تا 37 درجه باشد. در غیر این صورت باید نمونه‌گیری تکرار شود.

رنگ، شفافیت، pH و وزن مخصوص نمونه بررسی شود و اگر نمونه‌ای مشکوک به تقلب است، نمونه‌گیری مجدد انجام شود.

در مورد نمونه‌های خیلی رقیق باید وزن مخصوص نمونه اندازه‌گیری شود و در صورتی که وزن مخصوص آن کمتر از 1.004 باشد، نمونه‌گیری تکرار گردد.

نمونه‌هایی که غلظت کراتینین آنها کمتر از 20mg/dl باشند، باید مجدداً نمونه‌گیری شوند.

مورد انتظار نمونه ادرار در حد 4/5 – 8/5 قابل قبول می‌باشد (در صورتیکه pH نمونه کمتر یا بیشتر از مقدار مذکور باشد باید توسط سود نرمال و یا اسید کلریدریک نرمال به محدوده مورد انتظار رسیده و به منظور جلوگیری از تداخل موادی که باعث تغییر pH می‌گردند باید نمونه فقط با روش **کروماتوگرافی** مورد آزمایش قرار گرفته و نتیجه تایید گردد.

نباید مواد اضافی مانند مواد نگهدارنده به نمونه اضافه شود.

نمونه‌های دریافتی از مراکز قضائی و انتظامی می‌باید بصورت مهر و موم شده باشد. بطوریکه دسترسی به نمونه ادرار تا مرحله آزمایش امکان‌پذیر نباشد و نمونه‌گیر و فرد تحویل دهنده نمونه باید برگه درخواست را امضاء نمایند و این نمونه‌ها باید قبل از تحویل توسط آزمایشگاه از نظر رنگ، pH و وزن مخصوص و ... کنترل و پس از تأیید از مأمور تحویل گرفته شود.

بر روی نمونه‌ها برچسب چسبانیده شود و برچسب باید دارای نام و یا کد مشخص کننده فرد آزمایش شونده و همچنین تاریخ، زمان نمونه‌گیری و حجم تقریبی نمونه باشد.

در صورت مثبت شدن نتیجه آزمایش غربالی، می‌بایست نمونه ادرار مشکوک بصورت محفوظ (غیرقابل دسترسی برای افراد متفرقه) در یخچال و یا فریزر جهت انجام آزمایش تاییدی نگهداری شود.

### نگهداری نمونه‌ها

برای نگهداری نمونه‌ها تا 5 روز، فریزر با دمای 5- درجه سانتی‌گراد مناسب می‌باشد ولی برای مدت طولانی‌تر از دمای 20- درجه استفاده می‌شود و باید از یخ زدن و ذوب شدن‌های متوالی نمونه‌ها پرهیز نمود زیرا باعث تغییر مواد موجود در نمونه‌ها

می‌شود. ظروف نگهداری نمونه بسته به نوع ماده مورد آزمایش متفاوت می‌باشد. همچنین نمونه‌ها باید دور از نور و حرارت



نگهداری شود. در مورد نگهداری طولانی مدت نمونه‌های ادرار حاوی مرفین و کدئین ظرف پلاستیکی و دمای 20- درجه سانتی گراد مناسب است.

### مشخصات برگه نتیجه آزمایشگاه

- ü ترجیحاً باید نتایج بصورت پرینت کامپیوتری ارائه گردد.
  - ü نام و نشانی آزمایشگاه و شماره تلفن آن بر روی برگه جواب درج شود.
  - ü نام سازمان درخواست کننده، شماره معرفی‌نامه و تاریخ آن بر روی برگه جواب درج شود.
  - ü تاریخ انجام آزمایش و شماره پذیرش کامپیوتری و یا شماره سریال بر روی برگه جواب درج شود.
  - ü در زیر نویس برگه نتایج آزمایش تاکید شود که چه داروها و مواد مخدري مورد آزمایش قرار گرفته است.
  - ü مدت اعتبار نتیجه آزمایش (یک ماه از تاریخ صدور) بر روی برگه جواب درج شود.
  - ü امضاء مسئول آزمایشگاه بر روی برگه جواب موجود باشد.
  - ü ممهور بودن نتایج آزمایشها با مهر برجسته و ذکر اینکه نتایج آزمایشها بدون مهر برجسته فاقد اعتبار می‌باشد.
- مهر برجسته باید دارای مشخصات کامل آزمایشگاه شامل: آرم دانشگاه، نام کامل دانشگاه مربوطه، نام کامل آزمایشگاه و نیز عنوان بخش تشخیص مواد مخدر باشد.
- مهرهای آزمایشگاه انحصاراً باید در اختیار مسئول آزمایشگاه مواد مخدر و یا فرد مورد اطمینان وی بوده و تحت نظارت فرد مذکور نتایج مهر شده و سپس در محل امن (کمد یا کشوهای قفل‌دار) نگهداری شود.

### روشهای تشخیص مواد مخدر

روشهای رایج برای تشخیص مواد مخدر عبارتند از:

1. روشهای شیمیایی
2. روشهای کروماتوگرافی
3. روشهای ایمنولوژیک

#### 1- روشهای شیمیایی

روشهای شیمیایی از قدیمی‌ترین روشهای شناسائی آلکالوئیدها بخصوص مرفین می‌باشند. اساس این روشها بر مبنای انجام واکنش شیمیایی یک معرف با مرفین است که به صورت آزاد در حاصل استخراج وجود دارد. برای انجام آزمایش ابتدا باید مرفین را از مایع بیولوژیک استخراج نمود. دو معرف اختصاصی مرفین معرف‌های فرود و مارکی است (روش کار در دستور العمل





روشهای تشخیص مواد مخدر بطور کامل شرح داده شده است).

## 2- روشهای کروماتوگرافی

کروماتوگرافی یکی از معمولترین روشهای اندازه‌گیری کیفی و کمی داروها در مایعات بیولوژیک است. همه انواع کروماتوگرافی دارای اجزای زیر هستند.

فاز متحرک (Mobile phase) که مایع و یا گاز می باشد.

فاز ثابت (Stationary phase) که می تواند مایع و یا جامد باشد.

به طور کلی فاز متحرک به دلیل جریانی که دارد از کنار یا درون فاز ثابت عبور می کند و بر اساس تمایل اجزای مختلف نمونه مورد نظر با سرعتهای مختلف توسط فاز متحرک شسته می شوند. اگر ماده مورد آنالیز تمایل کمتری به فاز ثابت داشته باشد در نتیجه سریعتر توسط فاز متحرک شسته می شود و اگر بیشتر به فاز ثابت تمایل داشته باشند با سرعت کمتر شسته می شوند و به این ترتیب مواد از هم تفکیک می شوند. به عبارت دیگر اجزاء مختلف نمونه بر اساس اینکه با چه شدتی توسط فاز ثابت نگهداشته می شوند از هم جدا می گردند.

از انواع کروماتوگرافی می توان به موارد زیر اشاره کرد:

- کروماتوگرافی روی کاغذ (Paper Chromatography (PC)
- کروماتوگرافی روی لایه نازک (Thin Layer Chromatography (TLC)
- کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (High Performance Liquid Chromatography (HPLC)
- کروماتوگرافی گازی (Gas Chromatography (GC)

## 2-1- کروماتوگرافی روی کاغذ (Paper Chromatography (PC

در این نوع کروماتوگرافی پس از استخراج ماده مورد آنالیز آن را در حلال مناسب حل کرده و روی کاغذ لکه گذاری می کنیم. سپس آن را داخل تانک قرار می دهیم که در آن فاز متحرک قرار دارد. به دلیل کشش سطحی حلال روی سطح کاغذ بالا آمده و اجزاء مختلف بر اساس حلالیت و تمایل شان به فاز ثابت در محلهای مختلف باقی می ماند. هرچه اجزاء مخلوط بیشتر در حلال حل شوند روی سطح کاغذ بیشتر بالا می روند. و به این ترتیب از هم جدا می گردند. در مرحله بعد باید سپس بایستی با معرف مناسب لکه هارا ظاهر و قابل دید نمود.

## 2-2- کروماتوگرافی بر روی لایه نازک TLC

این روش ساده ترین و مفیدترین روش تشخیص اولیه و خلوص مواد است. در این روش فاز ثابت روی یک صفحه از جنس



پلیمر یا آلومینیوم کشیده می شود. که جنس فاز ثابت ترکیباتی نظیر سیلیکاژل ویا آلومینا می باشد. در این نوع کروماتو گرافی پلاریته اهمیت زیادی دارد. روش کار مانند کروماتو گرافی کاغذ می باشدو بطور خلاصه شامل مراحل ذیل است:

استخراج دارو ویا ماده مورد آنالیز از ادرار بوسیله حلال آلی، تغلیظ حاصل استخراج و حل کردن آن در یک حلال آلی ، لکه گذاری روی صفحه TLC، جداسازی ترکیبات بوسیله فاز متحرک، ظهور و شناسایی داروهای تفکیک شده توسط معرف های شیمیایی شناخته شد، استفاده از RF (نسبت حرکت نمونه مورد آنالیز روی صفحه TLC به حرکت جبهه فاز متحرک)، استفاده از جذب UV یا فلورسانس. توجه به نکاتی مثل خصوصیات فاز متحرک، فاز ثابت، اشباع بودن یا نبودن تانک کروماتوگرافی در جداسازی و شناسایی دارو مؤثر است.

### 2-2-1- مزایای TLC

- ساده ترین و مفید ترین روش تشخیص اولیه و خلوص مواد است. موادی که به هنگام لکه گذاری بر روی صفحه قرار داده می شوند، پس از تفکیک شدن بر روی آن باقی مانده و در نهایت در صورت بکارگیری آشکار سازهای مناسب، قابل شناسایی و مشاهده خواهند بود.
- کاربرد ساده داشته و نیاز به تجهیزات اندک دارد.
- قابلیت جداسازی و شناسایی مقادیر ناچیز مواد را دارا می باشد.
- زمان انجام آزمایش کوتاه است.
- می توان چندین نمونه را هم زمان آزمایش کرد.
- از فازهای ثابت و متحرک متنوع می توان استفاده نمود.
- از معرف های ظاهر کننده متنوع می توان استفاده نمود.

### 2-2-2- معایب TLC

- حساسیت آن کمتر از روشهای GC,GC/MS,HPLC می باشد.
- دقت و صحت آن کمتر از روشهای فوق می باشد.

### 2-3- گاز کروماتو گرافی (GC)

در روش گاز کروماتو گرافی فاز متحرک گاز است. ماده مورد آنالیز تحت فشار گاز در طول ستون کروماتو گرافی که توسط ذرات فاز ثابت پر شده است، حرکت کرده و بر اساس پلاریته با سرعت های متفاوتی در طول ستون حرکت می کنند و در نتیجه با فواصل زمانی مختلفی از انتهای ستون خارج شده و توسط آشکار ساز (Detector) شناسایی می شود.

این روش از حساسیت و دقت بالایی برخوردار است. روش کلی کار عبارتست از استخراج دارو با یک حلال مناسب، تغلیظ حاصل



استخراج و تبدیل آن به یک مشتق فرار (مشتق‌سازی)، تزریق به دستگاه گاز کروماتوگراف، عبور فاز متحرک گازی به همراه نمونه مورد آنالیز از ستون و بالاخره، شناسایی و ثبت توسط آشکارساز.

معمولاً به منظور افزایش حساسیت، دقت و صحت دستگاه گاز کروماتوگراف، آن را به طیف سنج جرمی متصل می‌کنند که به آن (GC/MS) می‌گویند. این روش، روش مرجع برای تشخیص بسیاری از دارو ها، مواد مخدر و مواد مورد آنالیز می‌باشد. با توجه به اینکه این روشها گران بوده و استفاده از آنها نیاز به تخصص دارد. بعلاوه نیازمند خدمات مناسب بعد از فروش می‌باشد، لذا مواردی از این قبیل استفاده از این سیستمها رادچار محدودیت میکنند. از اینرو از روشهای ساده تر و کاربردی دیگری که در عین حال از حساسیت و دقت مناسب برخوردار باشند (نظیر TLC) استفاده می‌شود.

#### 2-4- کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)

در روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا فاز متحرک مایع است. ماده مورد آنالیز تحت فشار پمپ در طول ستون کروماتوگرافی که توسط ذرات فاز ثابت پر شده است حرکت کرده و بر اساس پلاریته با سرعتهای متفاوتی در طول ستون حرکت می‌کنند در نتیجه با فواصل زمانی مختلفی از انتهای ستون خارج شده و توسط آشکارساز (Detector) شناسایی می‌شود. این روش از حساسیت و دقت بالایی برخوردار می‌باشد. روش کلی کار در HPLC شامل مراحل زیر است:

استخراج با یک حلال مناسب، تزریق حاصل استخراج به دستگاه و حرکت آن به همراه فاز متحرک مناسب با فشار بالا به داخل ستون، تفکیک آن و بالاخره تشخیص بوسیله آشکارساز و اندازه گیری ترکیبات مورد نظر براساس سطح زیر منحنی پیک‌های بدست آمده می‌باشد. امروز توسعه و تجهیز HPLC منجر به ساخت دستگاههای کاملاً خودکار و منعطف برای سیستم‌های مختلف شده است. این روش از حساسیت و دقت بالایی برخوردار است.

#### 3- روشهای ایمنولوژیک

همه این روشها براساس اتصال آنتی‌ژن به آنتی‌بادی می‌باشد. از آنجاییکه در حال حاضر به منظور آزمایشهای غربالی تشخیص مواد مخدر در ادار فقط از روش ایمنوکروماتوگرافی استفاده می‌شود، فقط به شرح آن می‌پردازیم و به ذکر نام تعدادی از سایر روشها اکتفا می‌کنیم:

RIA- رادیوایمونواسی (Radioimmunoassay)

FIA- فلوروسانس ایمونواسی (Fluorescentimmunoassay)

EIA- (Enzymeimmunoassay) که این سیستم خود شامل EMIT و ELISA می‌باشد.

- ممانعت از آگلوتیناسیون (Agglutination Inhibition)

- روش ایمنوکروماتوگرافی (Immuno chromatography)



## روش ایمنو کروماتوگرافی (Immunochromatography)

روشی که در حال حاضر در کشور به طور وسیعی برای آزمایشهای غربالگری تشخیص اعتیاد به مواد مخدر مورد استفاده قرار می گیرد، روش ایمنو کروماتوگرافی می باشد. این روش یک روش ایمنونواسی رقابتی بر روی نوارهای غشایی است. در این روش با قرار دادن ادرار بر روی نوارهای غشایی که دارای آنتی بادی ضد مرفین است نمونه را مورد بررسی قرار می دهند. رقابت میان مرفین و مرفین کونژوگه صورت می گیرد که تشکیل خط رنگی نشانگر اتصال کونژوگه مرفین و عدم حضور مرفین در ادرار است. این روش نیز با وجود حساسیت زیاد، با برخی داروها مانند کدئین نتایج مثبت کاذب ایجاد می کند.

### نحوه آزمایش تشخیص مواد مخدر در ادرار

آزمایشهای داروهای اعتیادآور و غیرمجاز در دو مرحله اجرا می شود. اولین مرحله شامل آزمایش غربالی و یا آزمایشهای اولیه است که برای تشخیص و تفکیک نمونه های منفی از نمونه های مثبت احتمالی انجام می گردد. دومین مرحله آزمایشهای تأییدی برای اثبات شناسایی دارو یا متابولیت های آن است که احتمال وجود آنها در مرحله غربالی مشخص شده است. روشهای متنوعی جهت غربالگری اولیه و نیز روش های تأییدی وجود داشته که با توجه به امکانات و دسترسی و هزینه های تجهیزاتی، دو روش متداول در آزمایشگاههای مراکز بهداشتی - درمانی جهت غربالگری اولیه و تأییدی انجام می پذیرد که شامل روش ایمنو کروماتوگرافی (غربالگری سریع) و روش کروماتوگرافی روی لایه نازک TLC می باشد.

کیت های تشخیص مرفین به روش الیزا نیز ارائه شده است که در آینده ممکن است مورد استفاده قرار گیرد.

### 1- کیت تشخیص مرفین در ادرار به روش TLC

این کیت به صورت تجارتي موجود می باشد. برای استفاد از این کیت به دستور العمل مربوطه مراجعه شود.

### 2- استخراج مرفین به روش مایع - مایع (LLE) Liquid-Liquid Extraction

در صورت عدم دسترسی به کیت مذکور می توان از روش TLC با استخراج مایع - مایع استفاده نمود که در ذیل به آن اشاره شده است:

1. 20 میلی لیتر نمونه با 2 میلی لیتر اسید کلریدریک غلیظ مخلوط شده و به مدت یک ساعت در بنماری جوش ، و یا 24 ساعت در دمای آزمایشگاه قرار می دهیم .
2. توسط سود غلیظ نمونه قلیایی شده و  $PH = 8.5 - 9$  تنظیم شود.
3. عمل استخراج توسط محلول کلروفرم : 2- پروپانل به نسبت 1:9 انجام شود. با این ترتیب که نمونه ادرار قلیایی شده را داخل قیف دکانتور ریخته و با 40 میلی لیتر محلول استخراج (کلروفرم : 2- پروپانل به نسبت 1:9) مخلوط کرده و به شدت هم می زنیم. سپس مدتی صبر می کنیم تا دو لایه شود. لایه زیری را از کاغذ صافی عبور داده و داخل بشر جمع آوری می



کنیم و توسط بنماری جوش آن را تبخیر می کنیم. پس از خنک شدن بشر، محتوای آن را در 3-4 قطره متانل حل کرده و روی صفحه TLC لکه گذاری شود.

۵ پلتهای TLC باید در دمای 110-80 درجه سانتی گراد به مدت 20 دقیقه فعال شود.

4. فاز متحرک شامل کلروفرم (12ml)، متانل (1.4ml)، آمونیاک (0.2ml) آماده شود. (از فازهای متحرک دیگری هم

می توان استفاده کرد ولی باید به این نکته توجه نمود که تداخلی بین مرفین، کدئین و سایر داروها وجود نداشته باشد.)

5. پس از 25-30 دقیقه از داخل تانک خارج میکنیم. چند دقیقه صبر می کنیم تا سطح پلنت خشک شود آنگاه حدود 8 دقیقه

در دمای 110-80 درجه سانتی گراد قرار می دهیم.

6. با استفاده از معرف یدو پلاتینات لکه های ایجاد شده را ظاهر می کنیم و پلنت را تفسیر می کنیم.

### نکاتی در مورد کنترل کیفیت کیت های مورد استفاده

کیت های غربالگری و تاییدی باید دارای تاییدیه معتبر مانند تاییدیه آزمایشگاه رفرانس باشد همچنین توجه به نکات ذیل قبل از استفاده آنها ضروری است.

1. تاریخ مصرف کیت (غربالی و تاییدی) معتبر باشد.

2. عرض نوار (غربالی) نباید کمتر از 5 میلی متر باشد.

3. کیت های غربالی و تاییدی در pH های مختلف (8/5 - 4/5) آزمایش شوند.

4. غلظت های مختلف مرفین در ادرار (به عنوان مثال در غلظت های 200 و 300 و 400 نانو گرم در میلی لیتر) آزمایش شوند.

5. خطوط تست و کنترل (در روش غربالی) پراکندگی و کشیدگی رنگ نداشته باشد.

6. سرعت حرکت نمونه ادرار بر روی نوار تست مطابق بروشور باشد. (معمولاً 30-45 ثانیه)

7. در هر سری کاری از نمونه های کنترل مثبت و منفی باید استفاده شود.

8. نتیجه آزمایش کیت های مورد آزمایش جدید با کیت های قابل قبول و معتبر مقایسه شوند. برای این کار باید از نمونه های

مثبت، منفی و استاندارد مرفین استفاده شود.

9. در روش TLC سرعت حرکت بافرها و تخلیه نمونه ادرار از ستونهای کروماتوگرافی بایستی مطابق دستور العمل کیت های

مورد استفاده انجام شود.

10. در روش TLC سرعت حرکت فاز متحرک مطابق دستور العمل کیت (حدود 25-30 دقیقه) باشد.

11. در روش TLC مرفین با فاصله مناسب از کدئین (حدود 2-1.5 سانتی متر) تفکیک شود.

12. در روش TLC مرفین با فاصله مناسب از محل لکه گذاری (حدود یک سانتی متر) ظاهر شود.



## مواردی از منابع خطا

- ü در صورت غلظت کم دارو و در محدوده cutoff (300 ng/ml) ممکن است نتیجه تست نواری مشکوک تلقی گردد که در این گونه موارد باید نمونه با روش تأییدی کنترل شود.
- ü از مخلوط نمودن نمونه‌ها برای انجام آزمایش بعنوان یک نمونه جداً پرهیز گردد. در غیر اینصورت با رقیق شدن نمونه مثبت، مقدار دارو از غلظت حد مرزی کمتر گردیده و نتیجه به غلط منفی گزارش می‌گردد.
- ü در روش TLC از آنجائیکه به تجربه و مهارت فرد آزمایش کننده بسیار وابسته است، توصیه می‌گردد از افراد باتجربه و آموزش دیده استفاده گردد.
- ü در روش TLC می‌باید کلیه مراحل مطابق دستورالعمل کیت انجام گیرد و زمانهای ذکر شده برای هر مرحله رعایت گردد.
- ü کنترل میزان خلا پمپ (در محدوده 0.05-0.3Bar) مورد استفاده در مرحله استخراج TLC باید در هر سری کاری تنظیم شود.
- ü سرعت حرکت بافرها و تخلیه نمونه ادرار از ستونهای کروماتو گرافی بایستی مطابق دستور العمل کیت‌های مورد استفاده باشد.
- ü دمای هات پلیت در محدوده 80-110 درجه سانتی گراد تنظیم شود.
- ü زمان اشباع شدن تانک کروماتو گرافی حدود 45-60 دقیقه رعایت شود.
- ü زمان لازم برای خواندن نتایج پلیت TLC (حدود یک ساعت) رعایت شود. و سپس به منظور نگهداری طولانی مدت سطح آنها با یک صفحه شیشه ای پوشانیده شود.
- ü بشرهای استفاده شده بعد از اتمام آزمایش باید اسید واش شوند.
- ü برای انجام آزمایش TLC باید مشخصات نمونه با ذکر تاریخ در دفتر جداگانه‌ای ثبت گردیده سپس روی پلیت TLC کد گذاری و آزمایش گردد. همچنین پس از انجام آزمایش، روی پلیت‌ها تاریخ آزمایش ثبت گردیده و مدت یکسال نگهداری شود.

## رعایت اصول ایمنی در آزمایشگاه تشخیص مواد مخدر

- در آزمایشگاه تشخیص مواد مخدر باید کلیه اصول ایمنی جزوه " اصول کلی حفاظت و پیشگیری از آلودگی کارکنان " رعایت گردد. (این جزوه ضمیمه گردیده است) در ذیل به نکاتی چند اشاره می‌شود:
- ü هنگام کار از روپوش، دستکش، ماسک و عینک استفاده شود.

- ü پس از انجام آزمایش با مواد ضد عفونی کننده مناسب (هیپوکلریت سدیم) سطوح کار ضد عفونی شود.
- ü از پوار و پیت فیلبر برای برداشتن محلولها توسط پی پت استفاده شود.
- ü مواد ضد عفونی کننده مناسب وظروف Safety box در دسترس باشد.
- ü با توجه به بخارات شیمیائی حاصل از مواد شیمیائی استفاده شده در روش TLC، لازم است کلیه مراحل آزمایش در زیر هودقوی انجام گردیده و به منظور حفاظت و ایمنی پرسنل از دستکش و ماسک استفاده نمایند.
- ü ستونهای کروماتوگرافی، نوار و یا کاست کیتهای غربالی استفاده شده بعد از اتمام آزمایش به روش بهداشتی دفع گردد.
- ü کلیه وسایلی که به هنگام آزمایش با ادرار آغشته شده است با ماده ضد عفونی کننده مناسب (محلول سفید کننده خانگی با کلر فعال 5% که به نسبت یک به ده رقیق گردیده)، ضد عفونی و سپس شسته شود.
- ü درون محفظه خلا در هنگام آزمایش TLC مقداری محلول ضد عفونی کننده اضافه شود. برای جلوگیری از پخش آئروسول در فضا بایستی آزمایش زیر هود انجام شود.
- ü بخش نمونه گیری ادرار کاملاً تمیز و ضد عفونی شود.
- ü نمونه گیر از دستکش استفاده کند.

### فضای فیزیکی

- با توجه به تعداد قابل توجه مراجعین به آزمایشگاههای تشخیص اعتیاد به موادمخدر در مراکز بهداشتی- درمانی که عمدتاً از مراجعین ازدواجی و استخدامی و غیره می باشند، حتی المقدور باید فضای مناسب و امکانات رفاهی مناسب جهت مراجعین فراهم گردد.
- ü سالن انتظار به ازاء هر مراجعه کننده حداقل نیم مترمربع باشد.
- ü سرویس بهداشتی مخصوص نمونه گیری آقایان (متناسب با تعداد مراجعین) وجود داشته باشد.
- ü سرویس بهداشتی مخصوص نمونه گیری خانمها (متناسب با تعداد مراجعین) وجود داشته باشد.
- ü فضای فیزیکی آزمایشگاه تشخیص اعتیاد به موادمخدر (غربالگری و TLC) حد اقل 20 مترمربع باشد.
- ü فضای فیزیکی مربوط به سیستم مانیتور مدار بسته و کنترل هویت مراجعین حد اقل 3 مترمربع باشد.
- ü ترجیحاً فضاهای مربوط به نمونه گیری و انجام آزمایش تشخیص اعتیاد به موادمخدر جهت انتقال آسان نمونه ها و حفاظت و ایمنی بیشتر در مجاورت همدیگر باشد و به هم ارتباط داشته باشد.



### تجهیزات بخش تشخیص موادمخدر

- سیستم سخت‌افزاری و نرم‌افزاری آزمایشگاه تشخیص موادمخدر
- سیستم مدار بسته جهت نظارت بر نمونه‌گیری
- دماسنج دیجیتالی
- pH متر
- رفراکتومتر
- سانتریفوژ
- هات پلیت
- پمپ خلا
- هود معمولی با قدرت تهویه مناسب
- یخچال و فریزر
- سینک بزرگ
- کابینت آزمایشگاهی با عرض حد اقل 60 سانتیمتر به مترای حداقل 7 مترمربع

### کنترل و نگهداری تجهیزات

کنترل کیفی ابزار پایه مورد استفاده در بخش تشخیص موادمخدر باید بصورت دوره‌ای انجام گردیده و مستندات آن در آزمایشگاه موجود باشد. (برای اطلاع بیشتر به جزوه کنترل کیفی ابزار پایه تدوین شده توسط آزمایشگاه مرجع سلامت مراجعه شود).

ü پمپ خلا (در محدوده 0.05-0.3 Bar) هر شش ماه یک بار کالیبره شود.

ü دمای هات پلیت در محدوده 80-110 درجه سانتی‌گراد تنظیم شود و در فواصل زمانی شش ماه کالیبره گردد.

### حد اقل نیروی فنی مورد نیاز جهت 340 واحد کاری

- مسئول فنی آزمایشگاه 1 نفر دکترای علوم آزمایشگاهی، متخصص علوم آزمایشگاهی و یا متخصص آسیب شناسی بالینی.
- در صورتی که آزمایشگاه مواد مخدر به صورت آزمایشگاه مجزایی فعالیت نماید باید دارای مسئول فنی جداگانه باشد. در غیر این صورت با بخشهای دیگر دارای مسئول فنی مشترک می باشد.
- کاردان و یا کارشناس علوم آزمایشگاهی 1 نفر به ازاء هر 340 واحد کاری
- ناظر نمونه‌گیر آقایان 1 نفر پرسنل آموزش دیده، ترجیحاً





- ناظر نمونه‌گیر خانم‌ها
  - متصدی پذیرش
- می باشد.
- به نسبت افزایش واحدهای کاری، پرسنل آزمایشگاه نیز متناسب آن باید افزایش داده شود.

تهیه و تنظیم :

**اداره کل آزمایشگاه مرجع سلامت**

**اداره مدیریت آزمایشگاههای بهداشتی**