پژوهش درپزشکی (مجله پژوهشی دانشکده پزشکی)
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
دوره ۳۲، شماره ۲، تابستان ۱۳۸۷، صفحات ۱۲۱ تا ۱۲۵

مقاله اصلی
(Original Article)

آشکارسازی تقلب‌های منجر به پاسخهای منفی کاذب در آزمایش تشخیص اعتیاد

دکتر مهدی هدایتی*، دکتر احمد رضا تاجیک، اختر کاظمی**، مریم السادات دانشپور***

* مرکز تحقیقات چاقی، پژوهشکده علوم غدد درون ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
** مرکز تحقیقات علوم آزمایشگاهی ۶۶۰ ارتش جمهوری اسلامی ایران

چکیده

سابقه و هدف: *مصرف کنندگان مواد مخدر همواره در تلاش برای پنهان نمودن اعتیاد خود هستند. هدف این تحقیق، ارائه راهکاری مناسب جهت آشکارسازی تقلب‌های منجر به کسب نتایج منفی کاذب در آزمایش اعتیاد و یا آزمایش تشخیص مورفین در ادرار است.*

روش بررسی: *در این مطالعه از دو روش تست سریع ایمیونوکروماتوگرافی جهت غربالگری اولیه حضور مرفین در نمونه ادرار و روش کروماتوگرافی لایه نازک جهت تایید پاسخ‌های مثبت استفاده شد. از نمونه‌های ادرار ارجاع شده به آزمایشگاه مرکز تحقیقات ۶۶۰ ارتش جمهوری اسلامی برای این مطالعه استفاده شد. کلرید سدیم، سرکه، آب‌لیمو، نیتریت، پراکسید هیدروژن، سفید کننده به عنوان تغییر دهنده های رایج و موثر بر اسیدیته و یا قدرت یونی ادرار و تداخل در تست مورفین مورد بررسی قرار گرفتند.*

یافته‌ها: *اجرای آزمایشات به صورت دوتایی، با و بدون افزایش میزان آستانه مرفین (۳۰۰ نانوگرم در میلی‌لیتر) در حضور و غیاب موارد مداخله‌گر سبب آشکارسازی تمام موارد منفی کاذب با تداخل کننده‌های مختلف شد.*

نتیجه‌گیری: *روش اجرای دوتایی آزمایش ادرار مرفین، با و بدون افزایش میزان آستانه مرفین به نمونه‌ها، قادر به کشف نمونه‌های منفی کاذب بوده و از ارایه نتایج منفی کاذب آزمایش به معتادان مداخله‌گر جلوگیری می‌کند.*

واژگان کلیدی: *آزمایش ادرار، مورفین، منفی کاذب، تقلب.*

مقدمه

معضلات فردی و اجتماعی ناشی از اعتیاد به مواد مخدر سبب درخواست آزمایش عدم اعتیاد در مواردی مانند ازدواج و استخدام شده است. متاسفانه هم‌زمان با پیشرفت روش‌های آزمایشگاهی کشف اعتیاد، روش‌های پنهان نمودن اعتیاد، یا به عبارتی ایجاد نتایج منفی کاذب به طرق مختلف فیزیکی و شیمیایی نیز گسترش یافته است.

مصرف‌کنندگان مواد مخدر برای گریز از نتایج مثبت آزمایش ادرار از سه روش کلی رقیق سازی نمونه ادرار، افزایش مواد مداخله‌گر و جابجایی نمونه استفاده می‌نمایند. در جابجایی نمونه، ادرار فرد معتاد با افراد فرد سالم و یا ادرارهای مصنوعی جابجا می‌شود. مصرف حجم زیاد مایعات و یا استفاده از داروهای مدر، با رقیق سازی نمونه ادرار، غلظت ماده مخدر و یا متابولیت‌های مورد جستجو را تا زیر آستانه تشخیص کاهش داده و سبب نتایج منفی کاذب می‌شوند (۱). استفاده از مواد مداخله‌گر، غالبا به افزودن مستقیم مواد شیمیایی خانگی و یا قابل دسترس به ادرار جهت تقلب در نتیجه آزمایش اطلاق می‌گردد. مواد مداخله‌گر ترکیباتی هستند که در ادرار طبیعی وجود ندارند و یا ترکیبات ادرار با غلظتی بالاتر از مقدار طبیعی هستند. افزایش مواد شیمیایی قوی، سبب تخریب دارو و متابولیت‌های آن شده و به اجزای واکنش

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، مرکز تحقیقات چاقی، پژوهشکده علوم غدد درون ریز و متابولیسم، دکتر مهدی هدایتی (**email:** Hedayati@endocrine.ac.ir)
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۶/۲/۱۷
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۷/۳/۷

Archive of SID
www.SID.ir

شناسگر نیز آسیب می‌زند و لذا نتایج منفی کاذب به بار می‌آورد (۲).

معتادان طیف وسیعی از ترکیبات شیمیایی خانگی و در دسترس برای انحراف نتایج آزمایش استفاده می‌کنند. صابون، نمک طعام، سفید کننده‌های مایع و جامد، پاک کننده‌های دندان مصنوعی رایج‌ترین این مداخله‌گرها هستند. البته گزارشاتی مبنی بر خوردن حجم زیادی سرکه، آبلیمو و حتی آب باطری برای اختلال در نتیجه آزمایش مواد مخدر گزارش شده است (۳). استفاده از سنجش گراویتی ادرار با رفرکتومتر، تقلب افزایش نمک به ادرار و نیز رقیق سازی آنرا آشکار می‌نماید. به علاوه غلظت کمتر از حد طبیعی اجزا و ترکیبات ادرار مانند کراتینین موید رقیق‌سازی نمونه خواهد بود (۴). البته امروزه افراد مذکور با مراجعه به اینترنت و سایت‌های تخصصی از مواد پنهان کننده تخصصی جهت اختفای حقیقت و انحراف نتیجه آزمایش استفاده می‌کنند. مواد غذایی مختلف و ویتامین‌ها باعث تغییر رنگ ادرار می‌شوند، ولی نمی‌توانند کاملا سبب ایجاد نتایج منفی کاذب در آزمایش تشخیص اعتیاد گردند و اغلب این رنگ‌ها در روش‌هایی مانند کروماتوگرافی جدا می‌شوند (۵). گروهی از مواد مداخله‌گر، خاصیت اکسیدکنندگی دارند و باعث تغییر ساختمان دارو و متابولیت‌های آن می شوند. البته گاهی محصول این تغییرات شیمیایی هنوز توسط روش‌های حاوی آنتی‌بادی شناسایی می‌شوند. نیتریت‌ها نیز از مواد رایج برای تداخل در آزمایش اعتیاد محسوب می‌شوند، اما از آنجایی که برای واکنش نیازمند زمان هستند، در نمونه‌های تازه تاثیر زیادی ندارند، البته چنان‌چه از زمان اخذ تا انجام آزمایش چند ساعت بگذرد موثر واقع می‌شوند. در ضمن محیط اسیدی به کارایی این تداخل کمک زیادی می‌کند و ادرارهای خنثی و یا قلیایی نسبت به اثر نیتریت‌ها مقاوم‌ترند (۶). تنظیم اسیدیته خنثی برای ادرار بعد از اخذ، سبب کاهش تداخل نتیتریت می‌گردد. نیتریت یک جزء طبیعی ادرار به میزان کم (۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) می‌باشد که اگر به عنوان مداخله‌گر استفاده شود تا چند هزار میکروگرم در میلی‌لیتر افزایش می‌یابد (۱). نمک‌های کرومات، در تداخل مشابه نیتریت عمل می‌کنند و خاصیت اکسید کنندگی دارند. پراکسید هیدروژن و آنزیم‌های اکسیداز هم از عوامل مداخله‌گری هستند که به فاکتورهای نهان معروف هستند، چرا که در ابتدا این عوامل مداخله‌گر به راحتی تشخیص داده نمی‌شدند (۷). گلوترآلدهید به دلیل واکنش با آنتی‌بادی‌ها و آنزیم‌ها و قفل نمودن آنها در روش‌های تشخیص دارویی مانند الایزا بطور جدی تداخل می‌کند (۲). صابون‌ها و دترژانت‌ها با تشکیل میسل‌هایی که داروهای هیدروفوب را در خود پنهان می‌کنند و در ضمن سبب تغییر ساختار فضایی آنتی‌بادی‌ها و آنزیم‌ها می گردند، باعث تداخل و کسب نتایج منفی کاذب خواهند شد (۸). همواره روش‌های تقلب جدید توسط مصرف کنندگان مواد مخدر برای پوشش دادن حضور مورفین در ادرار استفاده می‌شوند. از آنجایی که بررسی تک تک موارد تقلب منطقی به نظر نمی‌رسد، هدف از این تحقیق ارائه راهکاری برای کشف تقلب در آزمایش ادرار مورفین می‌باشد که مستقل از ماده تداخل کننده شناخته شده و یا ناشناخته باشد. منطق این کار کسب نتیجه منفی کاذب با اضافه نمودن مورفین در حد آستانه (۳۰۰ نانوگرم در میلی‌لیتر) به نمونه ادرار حاوی ماده تداخل کننده می‌باشد، به این معنی که نمونه ادرار با نتیجه منفی، چنانچه با افزودن مورفین در حد آستانه، مثبت شود، نتیجه منفی واقعی بوده است؛ اما اگر نتیجه با افزایش میزان آستانه مورفین منفی باقی بماند نشانه حضور تداخل کننده در نمونه ادرار است و نتیجه منفی کاذب گزارش نخواهد شد.

مواد و روشها

جهت غربالگری حضور مرفین در ادرار، از نوارهای تست سریع مرفین ادراری (رپید تست آکون [Acon]، سان دیگو، آمریکا و نیز رپید تست دیما [Dimma]، آلمان) بر اساس ایمونوکروماتوگرافی (Immunochromatography) استفاده شد. لازم به ذکر است حساسیت روش‌های مورد استفاده ۳۰۰ نانوگرم در میلی‌لیتر بود. برای تایید نتایج مثبت در آزمایش تشخیص مرفین ادرار از روش کروماتوگرافی لایه نازک (شرکت سم فن آور، تهران، ایران thin-layer chromatography [TLC]) با حساسیت ۱۰۰۰ نانوگرم در میلی‌لیتر استفاده شد. فاز جامد سیلیکاتی، فاز متحرک کلروفرم، اتانل و آمونیاک بود و رنگ آمیزی با کلروپلاتینات انجام پذیرفت.

در مورد استاندارد مورفین، مورفین مورد نیاز جهت اجرای دوتایی (**Double**) نمونه‌های منفی در حضور و غیاب مرفین، از شرکت دارو پخش تهیه شد.

جهت بررسی مواد افزودنی مسبب نتایج منفی کاذب، مواد شیمیایی خانگی شامل نمک، جوش شیرین، صابون، سرکه، آب‌لیمو، نیتریت، سفیدکننده، صابون مایع و آب اکسیژنه از مواد در دسترس در مغازه ها، سوپرمارکت‌ها و داروخانه‌ها استفاده شد. غلظت مواد تداخل کننده شامل ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر نمک طعام، ۳ درصد آب اکسیژنه، ۱۲ میلی‌لیتر در

Archive of SID
www.SID.ir

لیتر صابون مایع، ۱۲ میلی‌لیتر در لیتر مایع سفید کننده، ۸۵ میلی‌لیتر در لیتر سرکه، ۵۰۰ میلی‌لیتر در لیتر نیتریت، ۱۰۰ میلی‌لیتر در لیتر آب‌لیمو و ۵۰ میلی‌لیتر در لیتر جوش شیرین بود.

ابتدا یک **Pool** از ادرار افراد داوطلب سالم با نتیجه منفی تست مورفین تهیه شد. منفی بودن نتیجه مورفین با روش رپید تست تشخیص و با روش کروماتوگرافی لایه نازک تایید شد. نمونه ادرار به دو قسمت مساوی تقسیم شد. به هر دو قسمت، حد آستانه مورفین یعنی ۳۰۰ نانوگرم در میلی‌لیتر مورفین افزوده شد. به یک قسمت مواد تداخل کننده مختلف افزوده شد و قسمت دیگر به عنوان شاهد، همان حجم نرمال سالین اضافه گردید. وزن مخصوص و اسیدیته نمونه‌های مذکور اندازه گیری شد. در انتها به کلیه نمونه‌های مذکور ۳۰۰ نانوگرم در میلی‌لیتر مورفین سولفات افزوده و سپس از لحاظ حضور مورفین در حضور و غیاب مواد تداخل کننده بررسی شدند. هر آزمایش چهار بار تکرار شد.

یافته‌ها

نتایج حضور میزان آستانه مورفین با دو روش نوار رپید تستهای دیمای آلمان و آکون آمریکا در نمونه‌های ادراری که منفی بودن مورفین آنها تایید شده بود، در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱- نتیجه بررسی مورفین در نمونه های ادرار دارای میزان آستانه مورفین در حضور و غیاب تداخل کننده

	در غیاب تداخل کننده		در حضور تداخل کننده	
	دیمای آلمان*	آکون آمریکا*	دیمای آلمان	آکون آمریکا
نمک طعام (۵۰ **mg/ml**)	+	+	-	-
آب اکسیژنه (۳٪)	+	+	-	-
صابون مایع (۱۲ **mL/L**)	+	+	-	-
مایع سفید کننده (۱۲ **mL/L**)	+	+	-	-
سرکه (۸۵ **mL/L**)	+	+	-	-
نیتریت (۵۰۰ **mL/L**)	+	+	+	+
آب لیمو (۱۰۰ **mL/L**)	+	+	+	+
جوش شیرین (۵۰ **mg/L**)	+	+	-	-

* شرکت و کشور سازنده

همان‌طور که مشاهده می‌شود، افزایش ۳۰۰ نانوگرم در میلی‌لیتر مورفین سبب مثبت شدن تست سریع مورفین با هر دو نوع رپید تست شد. این نتایج پس از افزودن مواد تداخل کننده مختلف (بجز آب‌لیمو و نیتریت) منفی شد. به عبارتی تداخل کننده‌های آب اکسیژنه، نمک طعام، صابون مایع، سفیدکننده، سرکه و پودر بیکینگ با غلظت‌های قید شده سبب کسب نتایج منفی کاذب گردید. پس از افزودن مواد تداخل کننده، اسیدیته و وزن مخصوص نمونه ها در مقایسه با نمونه ادرار شاهد همان آزمایش، مورد سنجش قرار گرفت. مواد تداخل کننده نمک طعام، نیتریت و جوش شیرین سبب افزایش وزن مخصوص شدند. سرکه و آب‌لیمو سبب کاهش اسیدیته ادرار شدند. مایع سفید کننده و جوش شیرین سبب افزایش اسیدیته گردیدند (جدول ۲).

جدول ۲- نتیجه بررسی اسیدیته و وزن مخصوص نمونه های ادراری پس از افزودن مواد تداخل کننده

	تغییر در وزن مخصوص	تغییر در اسیدیته
نمک طعام (۵۰ **mg/ml**)	افزایش	بدون تغییر
آب اکسیژنه (۳٪)	بدون تغییر	بدون تغییر
صابون مایع (۱۲ **mL/L**)	بدون تغییر	بدون تغییر
مایع سفید کننده (۱۲ **mL/L**)	بدون تغییر	افزایش
سرکه (۸۵ **mL/L**)	بدون تغییر	کاهش
نیتریت (۵۰۰ **mL/L**)	افزایش	بدون تغییر
آب لیمو (۱۰۰ **mL/L**)	بدون تغییر	کاهش
جوش شیرین (۵۰ **mg/L**)	افزایش	افزایش

بحث

یکی از معضلات جنایی، adulteration یا دستکاری نمونه ادرار برای تغییر نتیجه آزمایش می‌باشد. سه روش اصلی برای این منظور، جابجایی نمونه، رقیق‌سازی و افزودن مواد تداخل کننده است. مواد تداخل کننده موادی هستند که سبب کسب نتایج منفی کاذب می‌گردند، یا در انجام آزمایش تشخیصی تداخل ایجاد می‌کنند و یا باعث تخریب ماده مخدر مورد جستجو می‌گردند (۹). رقیق‌سازی باعث کاهش غلظت ماده مخدر مورد جستجو به کمتر از آستانه تشخیص تست می‌گردد. رایج ترین روش‌های کشف دستکاری نمونه، سنجش کراتینین، اسیدیته، وزن مخصوص، و حضور گلوتارآلدهید، نیتریت و مواد اکسیدکننده (کلروکرومات پیریدینیوم) هستند (۱۰). از آنجایی که غلظت داروهای دفع شده در ادرار اهمیت دارد، رقیق‌سازی ادرار می‌تواند به کسب نتایج منفی کاذب بیانجامد. کراتینین کمتر از ۲۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر و وزن مخصوص کمتر از ۱/۰۰۳ نشانه رقیق شدن ادرار می‌باشد، اما کراتینین کمتر از ۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر و

Archive of SID

www.SID.ir

وزن مخصوص کمتر از ۱/۰۰۱ به عنوان نمونه غیرادراری در نظر گرفته می‌شود (۳). افزودن آب با سنجش کراتینین و وزن مخصوص، افزودن آمونیاک با اسیدیته و بوی نمونه، افزودن سفید کننده با بوی نمونه و افزودن صابون با کف‌کردن پایدار نمونه‌ها قابل کشف است. اما افزودن نیتریت، کلروکرومات و پراکسیداز عمدتا در شناسایی حشیش تداخل می‌کنند و برای کشف آنها از روش‌های تشخیصی خاص استفاده می‌شود (۱۱). در این مطالعه از نمک، جوش شیرین، صابون، سرکه، آبلیمو، نیتریت، سفیدکننده، صابون مایع و آب‌اکسیژنه به عنوان تداخل کننده‌های رایج استفاده شد. در مطالعه ما، حداقل میزان تداخل‌کننده‌های مذکور با گزارش سایر محققین همخوانی داشت (۱۴-۱۲). در این تحقیق نیتریت نتیجه منفی کاذب ایجاد نکرد که با نتایج تحقیقی که تداخل نیتریت را در متابولیت‌های حشیش موثر می‌دانند، سازگار بود (۵). عدم تداخل آب‌لیمو نیز با سایر گزارشات مطابقت داشت (۱۵). امروزه سطح پیشرفته‌تری از این مواد تداخل کننده تحت عنوان مواد دزدکی (Stealth) مطرح می‌باشند که در مطالعات بعدی مورد بررسی قرار خواهند گرفت. متاسفانه سایت‌های اینترنتی حرفه‌ای و پیشرفته‌ای برای ارائه مواد تداخل کننده وجود دارند که این‌گونه مواد را به فروش می‌رسانند و یا اطلاعات لازم را در اختیار مصرف‌کنندگان مواد مخدر قرار می‌دهند. اغلب این مواد را بجای افزودن به ادرار، مورد مصرف قرار میدهند تا متابولیزم دارو را تغییر دهند. لذا به عبارتی جنگی علمی میان مصرف‌کنندگان و آشکارکنندگان وجود دارد (۱۶). در پایان می‌توان گفت، هر چند استفاده از مواد تداخل کننده شناخته شده را می‌توان با آزمایش پارامترهایی از ادرار مانند درجه حرارت، وزن مخصوص، میزان کراتینین و میزان نیتریت تشخیص داد و یا با آزمایشات اختصاصی حضور مواد خاصی مانند گلوترآلدهید، انواع اکسیدکننده‌های شیمیایی مانند کلرکرومات پیریدینیوم و یا آنزیمی را کشف کرد. اما پشت سر متقلبان حرکت کردن و بررسی هر آنچه آنان به عنوان تقلب بکار می‌برند منطقی نیست. چرا که در جنگ علم علیه علم، همواره تداخل‌کننده‌های جدید و پیچیده‌ای به بازار می آیند که در ابتدا ناشناخته بوده و سپس کشفشان نیاز وقت و هزینه دارد. لذا پیگیری راهکارهای کشف تلقب که مستقل از ماده تداخل کننده و روش تقلب باشد، منطقی به نظر می‌رسد. نتایج این تحقیق نشان داد که استراتژی افزودن میزان آستانه ماده غیرمجاز به نمونه‌های منفی می‌تواند واقعی بودن و یا کاذب بودن نتیجه منفی را مشخص کند. از محدودیت‌های این شیوه این است که نمونه-های منفی برای تایید استفاده می‌شوند و تعداد نمونه‌های منفی همواره از نمونه‌های مثبت بیشتر است و باید آزمایش بصورت دوتایی انجام شود؛ لذا هزینه انجام آزمایش غربالگری افزایش خواهد یافت. البته می‌توان حداقل در خصوص نمونه‌های منفی مشکوک از این راهکار بهره برد.

از این مطالعه نتیجه‌گیری می‌شود که چنان‌چه از مواد تداخل کننده برای پوشاندن داروی غیرمجاز یا متابولیت‌های آن در نمونه مورد بررسی استفاده شود، افزودن میزان آستانه از داروی غیرمجاز به نمونه‌های منفی، راهکار مناسبی برای پی بردن به وجود مواد تداخل کننده می‌باشد. در این روش برای کشف تقلب عمدی یا سهوی نیازی به آگاهی از نوع ماده تداخل کننده نیست. کسب نتایج منفی پس از افزودن میزان آستانه از داروی غیر مجاز، حاکی از حضور ترکیب یا ترکیبات تداخل کننده می‌باشد.

REFERENCES

1. Mikkelsen SL, Ash KO. Adulterants causing false negatives in illicit drug testing. Clin Chem 1988;34:2333-36.

2. George S, Braithwaite RA. The effect of glutaraldehyde adulteration of urine on Syva EMIT II drugs-of-abuse assays. J Anal Toxicol 1996;20:195-96.

3. Tsai SCJ, Elsohly MA, Dubrovsky T, Twarowska B, Towt J, Salamone SJ. Determination of five abused drugs in nitrite-adulterated urine by immunoassays and gas chromatography-mass spectrometry. J Anal Toxicol 1998;22:474-80.

4. Dasgupta A, Wahed A, Wells A. Rapid spot test for detecting the presence of adulterants in urine specimens submitted for drug testing. Am J Clin Pathol 2002;117:325-29.

5. Wu A. Integrity of urine specimens submitted for toxicological analysis: adulteration, mechanism of action and laboratory detection. Forensic Sci Rev 1998;10:47-65.

6. Urry F, Komaromy-Hiller G, Staley B, Crockett D, Kushnir M, Nelson G, et al. Nitrite adulteration of workplace drug testing specimens: sources and associated concentrations of nitrite and distinction between natural sources and adulteration. J Anal Toxicol 1998:22;89-95.

7. Warner A. Interference of household chemicals in immunoassay methods for drugs of abuse. Clin Chem 1989:35; 648-51.

8. Cody J. Specimen adulteration in drug analysis. Forensic Sci Rev 1990;2:63-75.

Archive of SID
www.SID.ir

9. Paul BD, Jacobs A. Effects of oxidizing adulterants on detection of 11-nor-delta9-THC-9-carboxylic acid in urine. J Anal Toxicol 2002;26:460-43.

10. Doedens DJ, Forney RB. Confirmation of morphine on thin-layer plates by fluorometry. J Chromatogr 1974; 100:225-26.

11. King EJ. Performance of AdultsCheck 4 test stripes for the detection of adulteration at the point of collection of urine specimens used for drugs of abuse testing. J Anal Toxicol 1999;23:72.

12. Moyer TP. Marijuana testing-how good is it? Mayo Clin Proc 1987;62:413-17.

13. Schwartz RH. Laboratory detection of marijuana use. J Am Med Assoc 1985;254:788-90.

14. Duc VT. EMIT testsfor drugsofabuse: interference by liquid soap Preparations. Clin Chem 1985;31:658-59.

15. Wu A, Bristol B, Sexton K, Cassella-McLane G, Holtman V, Hill DW. Adulteration of urine by urine luck. Clin Chem 1999:45;1051-57.

16. Elsohly MA, Feng S, Kopycki WJ, Murphy TP, Jones AB, Davis A, et al. A procedure to overcome interferences caused by adulterant "Klear" in the GC-MS analysis of 11-nor-D9-THC-9-COOH. J Anal Toxicol 1997:20;240-42.

Archive of SID

www.SID.ir