

[论著]

对头发样本中的吗啡和甲基苯丙胺进行胶体金法定性检测的探索研究*

唐晓欢** 吴天辉 张从斌 邓媛 彭澎 王鲸 李建华

(云南省药物依赖防治研究所,昆明 650228)

摘要 目的:探索对头发样本中的吗啡和甲基苯丙胺进行胶体金法定性检测的可行性。方法:头发剪碎,甲醇 37℃ 孵育,氮气吹干,纯化水复溶,尿检板检测。结果:检测总阳性率 93%。结论:本法操作简便,检测结果与自我报告使用物质一致性较好。

关键词 头发样本;吗啡和甲基苯丙胺;胶体金法

doi: 10.13936/j.cnki.cjdd1992.2018.05.007

中图分类号 R917

Exploratory research of morphine and methamphetamine determination in hair samples by colloidal gold method

TANG Xiaohuan, WU Tianhui, ZHANG Congbin, DENG Yuan, PENG Peng, WANG Jing, LI Jianhua
(Yunnan Institute for Drug Abuse, Kunming, 650228, China)

Abstract *Objective:* To explore the determination feasibility of morphine and methamphetamine in hair samples by colloidal gold method. *Methods:* Hair samples were cut, extracted with methanol in 37°C, dried under nitrogen, redissolved by purified water, detected for the redissolved solution by urine test board at last. *Results:* The total test positive rate is 93%. *Conclusion:* The method is simple, and its testing result is mostly consistent with the self-report abused substance.

Keywords hair sample; morphine and methamphetamine; colloidal gold method

毒品是严重威胁人类健康的重大问题,准确的毒品检测对毒品的认定、戒毒治疗效果评估等方面具有重要作用^[1]。随着现代分析技术的发展,越来越多新的检测技术及仪器设备被应用于毒品检测中^[2],为毒品检测提供了更精确、更便捷的方法。

毒品检测的生物检材有血样、尿样、唾液、头发等^[2-3],而尿样的采集受到被采集人的配合程度、样品易被污染、易作假、涉及隐私等条件的限制。研究发现,吸毒者在临检测几小时内服用某种毒品清洗饮料,大量排尿,使体内残留毒品在检测前排出,则检测时就会出现假阴性结果^[4]。血液则需要专业人员的采集,样本易污染、易变质,且前处理复杂^[5]。相比之下,头发较血液和尿液等传统生物检

材有独特的优势,具有稳定、易采集、易保存等特点^[6]。相对于尿样,毛发分析可避免暂时性药物切断或掺假的干扰^[7]。毒品通过血液循环进入头发毛囊内,与之紧密结合并随之生长,因此头发中残留的毒品浓度可以反映吸毒者毒品的吸食量和吸毒时间长短。头发可以检测数周或数月之前残留在体内的化合物,没有一种常用的生物检材如血、尿、唾液等可提供像头发一样长程的用药信息^[4,8-9]。因此,头发毒品检测技术也逐渐成为有关领域内的热点,越来越受到重视。

头发中毒品或代谢物含量甚微,一般为 ng/mg 水平,且测试时需经过提取、净化等前处理过程^[10],需采用灵敏度较高、准确性好的仪器分析法,常见的有气/质联用(GC/MS)法、液质联用法(LC/MS)法、气/质联用串联质谱法(GC/MS/MS)等方法^[11]。而毒品胶体金免疫层析检测板即“尿检

* 国家重点研发计划重点专项(2017YFC1310400)

** 通信作者: E-mail: jingtxh@163.com

板”,由于具有操作简便、经济实用、快速准确等优点^[2],一直是公安机关检测嫌疑人是否吸毒的重要工具,在禁吸戒毒执法工作中应用广泛^[12]。质谱检测准确,但是对仪器和人员要求较高,成本昂贵,不易推广。尿检板检测成本低,操作简单,但是检测阈值较高。由于头发中毒品含量偏低,本研究旨在探索一种简便、易操作的实验方法,将头发经过前处理后达到尿检板的检测阈值,然后用胶体金法进行定性检测。若此实验可行,将有希望开发出一种更便捷、成本更低、更易推广的头发样本毒品检测筛查方法。

1 材料

1.1 仪器

德国赛多利斯电子天平(Sartorius, BT 214D, $d = 0.1 \text{ mg}$); 德国艾本德高速离心机(Eppendorf

Centrifuge 5810); 奥特赛恩斯负压过滤系统(Auto Science); 氮吹仪、多管涡旋混合器、水浴箱; 艾博尿检板(公安部吸毒检测试剂盒检查评比结果目录产品);

1.2 药品与试剂

甲醇^[13-14](分析纯, 500 ml); 纯化水(0.45 μm 滤膜过滤)。

2 方法

2.1 采集样本及信息

样本采集对象为强制隔离戒毒所内新入所的最近三月有毒品使用史的人员,头发长度至少达到2 cm以上者,选择其头后枕部作为采集点,从贴近头皮处剪取整根头发,一般需采集200根左右,采集的头发样本整齐装入自封袋中保存。采用自制表格“个人信息收集表”表1,收集毒品使用人员的基本信息,主要关注毒品使用史、毒品使用种类以及用量等。

表1 个人信息收集表

个人信息收集表							
姓名		性别		年龄		样本编号	
使用种类	海洛因	冰毒	摇头丸	麻古	K粉	大麻	其他
使用时间(月)							
使用频率							
使用量(克或粒)							
吸食方式							

2.2 样本处理

将头发从根部对齐,用直尺从根部测量4.0 cm长度并剪断,剪碎至1-2 mm长度,得头发样品,准确称量并记录,编号保存。

2.3 水解孵育

将剪碎称量后的头发样本置于50 mL带盖离心管内,加入甲醇20 mL,盖上盖子上下振摇检查密封效果,置于37°C水浴锅内孵育24 h^[15]。

2.4 提取目标物

孵育后的样品离心10 min(4000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$),分取上层有机相,氮气吹干,再用纯化水1 mL涡旋混匀5 min(2500 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$),得待测溶液。

2.5 样品检测

取待测溶液用吗啡、甲基苯丙胺检测板进行检测,按检测板说明书在3-8 min内读取结果,准确记录。

2.6 倍数稀释检测

取检测结果为阳性的检测溶液0.5 mL,再加入

0.5 mL的纯化水进行等倍数稀释,混匀后按“2.5”项下方法进行检测,记录结果,如检测结果为阳性则继续进行等倍数稀释,直至结果为阴性时停止。稀释倍数用于反推检测呈阳性结果所需的最小样本量。

2.7 阴性对照

选取无毒品使用史的正常人群8人,男女均有,收集头发,按“2.2-2.6”项下所述方法处理。

3 结果

3.1 人员一般情况

检测了强制隔离戒毒所内新入所人员的头发样本100份,性别均为男性,根据检测对象自我报告使用毒品种类进行分组,所有人员报告使用毒品仅有海洛因和麻古两类,故人员也分为两组,因麻古的主要成分即是冰毒,化学名为甲基苯丙胺,为便于理解,麻古和甲基苯丙胺均统一为冰毒,两组的年龄和

使用年限结果见表 2 ,报告两种毒品都使用的有 2 人 ,因两种毒品使用年限不同 ,所以此 2 人在两个组都进行分析 ,总数 $n = 102$ 。

表 2 年龄及使用年限分组对比

项目	海洛因组 ($n = 81$)	冰毒组 ($n = 21$)	检验	P 值
年龄 ($\bar{x} \pm s$)	37.75 \pm 9.65	34.05 \pm 7.99	t 检验	>0.05
使用年限 M(Q1, Q3)	8(3, 19)	4(2, 7.5)	秩和检验	<0.01

分组结果对比 ,使用海洛因和冰毒的人员年龄无差异 ($P > 0.05$) ,而使用年限分析具有统计学差异 ($P < 0.01$) ,海洛因组的使用年限明显长于冰毒组。

3.2 检测板检测结果

样本用检测板进行检测 ,检测结果实例如图 2。

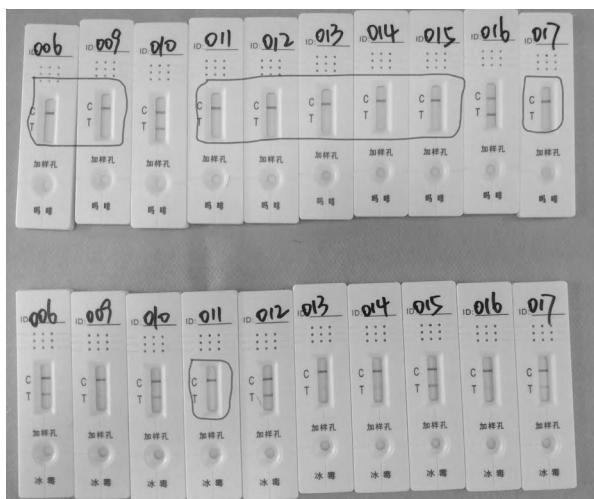


图 2 检测结果实例图(加框标注部分为阳性结果)

100 份样本的检测结果显示见表 3。

表 3 样本检测结果

检测结果	毒品种类	数量	合计	所占比例
阳性	吗啡	66	93	93%
	甲基苯丙胺	14		
	吗啡 + 甲基苯丙胺	13		
阴性	-	7	7	7%
合计		100	100	100%

检测结果总阳性率为 93%。

3.3 阳性结果

检测结果为阳性的 93 份样本中 ,分析检测结果和检测对象自己报告使用的毒品二者是否具有一致性 ,结果见表 4。

表 4 阳性样本一致性分析

检测结果		报告使用毒品		检测结果与报告 使用毒品一致性
种类	数量	种类	数量	
吗啡	66	海洛因	66	完全一致 87.1%
冰毒	14	冰毒	14	
		海洛因 + 冰毒	1	
吗啡 + 冰毒	13	海洛因	8	部分一致 12.9%
		冰毒	4	
合计	93		93	

在 93 份阳性样本中检测结果和检测对象自我报告的使用物质完全一致的有 81 份 ,占总阳性样本的 87.1% (海洛因的检测物质即是吗啡) 。剩余 12 份为部分一致 ,占比 12.9% ,即报告只使用一种毒品 ,检测结果两种都呈阳性。

3.4 分组结果

利用 93 份阳性样本的倍数稀释检测结果来推测检测呈阳性所需的实际最小样本量 ,即用“2.2”项下样品的称样量除以稀释倍数即得 ,如称样量为 200 mg ,稀释 2 倍为阳性 ,稀释 4 倍时转阴 ,即稀释倍数为 2 ,实际最小量就是 200/2 = 100 mg ,即此样本称样量为 100 mg 理论上也能测到阳性 ,低于 100 mg 就可能转阴。

按检测结果统一分为吗啡及冰毒两组 ,因两组的检测阈值不同 ,同一份样本其稀释倍数也不一致 ,为便于分析 ,把检测结果为吗啡 + 冰毒阳性(双阳性)者拆分为吗啡和冰毒合并到两组中 ,根据表 5 中的阳性检测结果 ,吗啡 66 ,冰毒 14 ,双阳性 13 ,故吗啡组合并数应为 79(66 + 13) ,冰毒组为 27(14 + 13) 。实际最小样本量结果见表 5。

结果显示 ,吗啡组和冰毒组实际最小样本量的中位数都在 30 mg 左右 ,而且超过 60% 都是在 50 mg 以下 ,说明大部分的样本仅需少量即可检测到阳性 ,样本量 150 mg 以下出现阳性的比率吗啡组约为 94% ,冰毒组约为 89% ,均值为 91.5% ,因此提示我们样本量超过 150 mg 即有 90% 以上的可能性能得到阳性结果 ,如滥用物质为吗啡 ,阳性的可能性更高。

表5 分组实际最小样本量分析

实际最小 样本量/mg	吗啡组		冰毒组	
	数量	占比%	数量	占比%
0-50	51	64.56	19	70.37
50-100	16	20.25	1	3.70
100-150	7	8.86	4	14.81
150-200	1	1.27	0	0
>200	4	5.06	3	11.11
合计	79	100	27	100
中位数 Me/mg	33.84	--	39.41	--

3.5 阴性对照结果

无毒品使用史的正常人群 8 人, 头发处理结果见表 6。

表6 无毒品使用史的正常人阴性结果对照表($n=8$)

性别	年龄/a	取样量/mg	检测结果	
			吗啡	冰毒
女	28	346.9	-	-
男	27	249.3	-	-
男	28	389.0	-	-
女	35	806.4	-	-
女	39	824.9	-	-
女	34	1162.8	-	-
女	55	1451.4	-	-
女	35	1151.2	-	-

4 讨论

根据表 4 里的阳性样本一致性分析, 在 93 份阳性样本中, 检测结果和检测对象自己报告的使用物质完全一致的达到了 87.1%, 其余的也是部分一致, 部分一致的原因有可能是检测对象少报和漏报使用物质, 也有可能毒品成分不纯, 昆明地区常用的冰毒片剂麻古就是多种成分的混合物。检出信息是包含且多于对象报告信息的, 没有出现二者完全相悖的情况。

在实验之前都不确定头发中的毒品浓度是否能达到尿检板的检测阈值, 吗啡为 $300 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, 冰

毒为 $1000 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, 因此都是取尽量多的样本, 争取能达到检测限, 出现阳性结果后又依据稀释转阴性数来反推理论上出现阳性结果所需要的实际最小样本量。表 5 结果显示, 大部分的样本仅需少量即可检测到阳性, 样本量超过 150 mg 即有 90% 以上的可能性能得到阳性结果, 如滥用物质为吗啡, 阳性的可能性更高, 考虑吗啡的检测阈值明显低于冰毒, 因此吗啡的最小取样量低于冰毒也是合理的。

有 7 份阴性样本的取样量和其他样本没有明显差别, 但结果为阴性, 样本没有多余的备份, 而且信息收集表设置内容比较简单, 无法分析是操作过程的原因还是检测对象偶尔吸食导致的阴性, 这些在以后的研究中都要加以改进。

本研究旨在想探索下能否用尿检板来做头发检测, 研究的出发点也是希望尽量发挥尿检板方便快捷的特点, 且尿检板本身就可作为定性检测的方法依据, 因此前处理方法设计也是尽量简便, 不做过多反复提取。我们的实验表明, 胶体金法定性对头发提取液检测结果(表 3) 总阳性率为 93%, 结果与毒品使用者自我报告一致性较高, 完全一致为 87.1%, 且检出信息多于报告信息, 已经达到研究预期, 后续研究需要继续优化实验方法, 并结合质谱检测的定量数据, 考察此方法的实用性。

头发验毒技术在欧美等发达国家主要应用于以下几个方面: 驾驶证申领前吸毒史检查、戒毒治疗监测、毒品致死案件, 招工前药物滥用检测等方面, 目前香港政府已尝试推广头发验毒技术。头发验毒服务还能人群(学生、员工等) 吸毒问题普查、戒毒临床检测、已戒毒人员跟踪帮教等毒品监管提供强有力的技术支撑, 在筛选性体检(如征兵、招工、公务员考录、考取驾照、特殊行业等) 项目也可增加头发验毒检测结果作为参考依据^[16-17]。头发样本的胶体金法检测也可以作为质谱检测方法的补充, “尿检板”还可以用于实验室检验之前的初检^[18], 缩小检验范围, 有些情况下, 如果使用“尿检板”多次检验, 结果均显阴性, 就没有必要进行质谱检验, 进而节省了时间和经费^[15]。

5 参考文献

- [1] 张琼, 邵雷, 张润生, 等. 生物样品中毒品代谢标志物检测的研究进展[J]. 中国医药工业杂志, 2014, 45(9): 883-890.
- [2] 李阳, 孙杰燕. 免疫分析方法在毒品检测中的应用与进展[J]. 科学之友, 2011, (6): 6-7.
- [3] 王军, 金佳佳, 张小凡, 等. 生物检材中苯丙胺类兴奋剂的提取[J]. 江苏警官学院学报, 2012, 27(5): 171-176.

- [4] 谢普,王铁杰,殷果,等. UPLC-MS/MS 法测定吸毒者头发中 10 种毒品代谢物的含量[J]. 药物分析杂志, 2014, 34(3): 516-522.
- [5] 陈跃,于忠山,朱军,等. 唾液检材在毒品检测中的应用[J]. 中国法医学杂志, 2013, 28(1): 26-29.
- [6] Pragst F, Balikova MA. State of the art in hair analysis for detection of drug and alcohol abuse[J]. Clin Chim Acta, 2006, 370(1-2): 17.
- [7] 孟品佳,何洪源,朱丹,王燕燕. 苯丙胺类毒品滥用者毛发中毒品及其代谢物的分析与解释[J]. 药物分析杂志, 2008, 25(5): 709-714.
- [8] Cooper G, Moeller M, Kronstrand R. Current status of accreditation for drug testing in hair[J]. Forensic Sci Int, 2008, 176(1): 9.
- [9] Zhu KY, Leung KW, Ting AKL, et al. The establishment of a highly sensitive method in detecting ketamine and norketamine simultaneously in human hairs by HPLC-Chip-MS/MS[J]. Foren Sci Int, 2011, 208(1-3): 53.
- [10] 朱丹,孟品佳,何洪源. 动态液相微萃取-微波衍生化-气相色谱/选择离子检测-质谱法测定毛发中的苯丙胺类毒品[J]. 色谱, 2007, 25(1): 16-20.
- [11] 崔连义. 毛发中新型毒品检验分析研究进展[J]. 化学试剂, 2014, 36(7): 617-622, 628.
- [12] 魏春生,高小平. 毒品胶体金免疫层析检测板在缉毒侦查中的应用[J]. 中国药物依赖性杂志, 2011, 20(3): 235-237.
- [13] Han E Y, Paulus M P, Wittmann M. Hair analysis and self-report of methamphetamine use by methamphetamine dependent individuals[J]. J Chromatogr B, 2011, 879(7-8): 541-547.
- [14] 国菲,王燕燕,孟品佳,等. 海洛因滥用者毛发中毒品代谢物的固相萃取-GC/MS 分析[J]. 分析试验室, 2010, 29(2): 121-124.
- [15] 苗翠英,吴洋. 毛发中毒品分析[J]. 刑事技术, 2006, (1): 32-35.
- [16] 王铁杰,詹华强,孙新珺,等. UPLC-MS/MS 同时测定头发中十种残留毒品含量——深港创新合作共建头发验毒服务平台[J]. 中国药物滥用防治杂志, 2012, 6(5): 317-319.
- [17] 谢普,王铁杰,殷果,等. 头发验毒技术和服务平台的研究及应用——深港创新合作共建头发验毒服务平台(II)[J]. 中国药物滥用防治杂志, 2014, 20(1): 1-4.
- [18] 高小平. 涉毒尿检亟待规范化[N]. 人民公安报, 2004-03-16(6).

收稿日期: 2018-06-08

修回日期: 2018-08-18

(上接第 343 页)

- [5] Sc DMR, Med, Timpon S, Williams M, et al. Stigma consciousness concerns related to drug use and sexuality in a sample of street-based male sex workers [J]. International Journal of Sexual Health, 2007, 19(2): 57-67.
- [6] Luoma JB, Nobles RH, Drake CE, et al. Self-stigma in substance abuse: development of a new measure [J]. J Psychopathol Behav Assess, 2013, 35(2): 223-234.
- [7] Smith LR, Earnshaw VA, Copenhaver MM, et al. Substance use stigma: Reliability and validity of a theory-based scale for substance-using populations [J]. Drug Alcohol Depend, 2016, (162) 34-43.
- [8] 徐晖. 精神分裂症患者病耻感及其与服药依从性关系的研究 [D]; 中国协和医科大学, 2008.
- [9] 吴明隆. 结构方程模型: AMOS 的操作与应用. 第 2 版 [M]. 重庆大学出版社, 2010.
- [10] Livingston JD, Milne T, Fang ML, et al. The effectiveness of interventions for reducing stigma related to substance use disorders: a systematic review [J]. Addiction, 2015, 107(1): 39-50.
- [11] Corrigan PW, Watson AC, Heyman ML, et al. Structural stigma in state legislation [J]. Psychiatr Serv, 2005, 56(5): 557-563.
- [12] Luoma JB, Twohig MP, Waltz T, et al. An investigation of stigma in individuals receiving treatment for substance abuse [J]. Addict Behav, 2007, 32(7): 1331.
- [13] Livingston JD, Boyd JE. Correlates and consequences of internalized stigma for people living with mental illness: a systematic review and meta-analysis [J]. Soc Sci Med, 2010, 71(12): 2150.
- [14] Earnshaw V, Smith L, Copenhaver M. Drug addiction stigma in the context of methadone maintenance therapy: An investigation into understudied sources of stigma [J]. Int J Ment Health Addict, 2013, 11(1): 110-122.

收稿日期: 2018-05-18

修回日期: 2018-08-01