

## تست ریپید بوپرنورفین (نوار تست) BUP Rapid Test (Strip)

### مقدمه

این تست جهت تشخیص کیفی بوپرنورفین در ادرار است که تنها برای استفاده دارویی و تشخیص in vitro می‌باشد.

این تست بر اساس روش ایمنووکروماتوگرافی عمل می‌نماید و حساسیت این تست ۱۰ ng/ml می‌باشد (Cut off: ۱۰ ng/ml).

این تست تنها یک نتیجه تحلیل کیفی مقدماتی را ارائه می‌دهد. 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. ملاحظات بالینی و تخصصی باید برای مورد سو، مصرف مواد به ویژه زمانی که نتایج تست مثبت می‌باشند، به کار برده شود.

### خلاصه

بوپرنورفین یک مسکن قوی می‌باشد که اغلب برای درمان اعتیاد استفاده می‌شود. این دارو با نام‌های تجاری Temgesic Suboxone, BUPrenex, Subutex که حاوی بوپرنورفین HCl در ترکیب با Naloxone HCl می‌باشد. از لحاظ درمانی، بوپرنورفین درمان جایگزین برای معتادین به مواد مخدر (مثل هروئین) می‌باشد. در درمان جایگزین، بوپرنورفین به اندازه متادون قوی و موثر می‌باشد اما میزان اعتیاد آن نسبت به متادون کمتر می‌باشد. غلظت‌های بوپرنورفین و نور بوپرنورفین در ادرار ممکن است کمتر از ۱۰ ng/ml بعد از درمان باشد اما تا رنج ۲۰ ng/ml در موارد سو، مصرف نیز می‌رسد. نیمه عمر پلاسمای بوپرنورفین ۲ تا ۴ ساعت می‌باشد. در حالی که حذف کامل یک دز آن حدود ۶ روز طول می‌کشد، منشا ردیابی برای داروی مادر در ادرار تقریباً سه روز می‌باشد. ریپید تست بوپرنورفین یک غربالگری سریع نمونه‌های ادرار می‌باشد که می‌توان بدون استفاده از وسایل آزمایشگاهی آن را انجام

داد. این تست از آنتی بادی مونوکلونال برای تشخیص اختصاصی سطح بالای بوپرنورفین در ادرار استفاده می‌کند. ریپید تست BUP در شرایط مثبت می‌شود که بوپرنورفین در ادرار بیش از ۱۰ ng/ml برسد.

### دستور العمل استفاده

تست ریپید بوپرنورفین یک روش ایمنوواسی بر پایه اتصال رقابتی می‌باشد. داروهایی که در نمونه ادرار ممکن است یافت شوند با داروهای حاصل از متابولیک کبد برای اتصال به آنتی‌بادی‌ها در رقابت هستند. در طی آزمایش، نمونه ادرار از طریق خاصیت مویبندی به سمت بالا حرکت می‌کند. اگر بوپرنورفین موجود در ادرار زیر ۱۰ ng/ml باشد محل‌های اتصال به ذرات پوشیده شده از آنتی بادی را در تست پر نمی‌کند. آنتی بادی که بر روی ذرات موجود است به وسیله بوپرنورفین ترکیب شده جذب خواهد شد و از خود یک خط رنگی در ناحیه خط تست (T) برجای خواهد گذاشت. چنانچه سطح بوپرنورفین بالای ۱۰ ng/ml باشد خط رنگی در ناحیه خط تست (T) ظاهر نخواهد شد زیرا همه محل‌های اتصال آنتی بادی‌های بوپرنورفین را اشغال می‌کند. اگر وجود بوپرنورفین 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 بوپرنورفین 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 نشان دهنده حجم مناسبی از نمونه می‌باشد که به غشا افزوده شده است.

### ترکیبات

نوار تست حاوی ذرات متصل به آنتی بادی مونوکلونال ضد بوپرنورفین و ترکیب پروتئین-بوپرنورفین کنژوگه شده می‌باشد. آنتی بادی ثانویه تهیه شده در گونه بز نیز برای خط کنترل به کار گرفته شده است.

+ احتیاط: تنها برای استفاده تشخیصی in vitro می‌باشد.

پس از تاریخ انقضا، مصرف نشود. تست تا زمان استفاده باید در بسته بندی 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 بسته بندی شده در دمای اتاق یا یخچال نگهداری شود (2-30°C). تست تا زمان تاریخ انقضای درج شده بر روی بسته معتبر می‌باشد. از بیخ زندگی محافظت شود و پس از تاریخ انقضا، استفاده نشود.

### جمع‌آوری و آماده سازی نمونه

+ جمع‌آوری ادرار: نمونه ادرار باید در یک ظرف تمیز جمع‌آوری گردد، ادرار جمع‌آوری شده در هر زمان از روز ممکن است مورد استفاده قرار بگیرد.

+ نگهداری نمونه: نمونه ادرار می‌تواند در دمای ۸-۲°C برای بیشتر از ۴۸ ساعت نگهداری شود و برای ذخیره طولانی مدت در دمای ۲-۰°C فریز گردد. نمونه‌های فریز شده باید قبل از تست، ذوب و ترکیب گردد.

### محتویات و لوازم مورد نیاز

مواد موجود در کیت:  
مواد مورد نیاز که در کیت وجود ندارد:

- بروشور
- ظرف جمع‌آوری نمونه
- نوار تست
- تایمر

### راهنمای استفاده

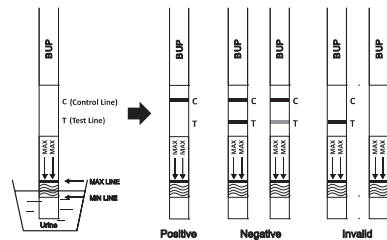
قبل از انجام آزمایش اجازه دهید نوار تست و نمونه ادرار به دمای اتاق برسد (۳۰-۱۵°C).

• قبل از باز کردن بسته، اجازه دهید دمای نوار تست به دمای اتاق برسد، نوار تست را از پوشش جدا کرده و حدامکان از آن زود استفاده شود.

• نوار تست را از جعبه 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.

+ از تفسیر نتایج پس از ۱۰ دقیقه اجتناب نمایید.



### تفسیر نتایج

منفی: دو خط آشکار می‌شود یک خط باید در ناحیه کنترل (C) باشد و خط رنگی دیگر در ناحیه تست (T) ظاهر شود، این نتیجه منفی نشان دهنده آن است که غلظت بوپرنورفین کمتر از سطح قابل ردیابی (۱۰ ng/ml) می‌باشد.

+ توجه: شدت رنگ در ناحیه تست (T) 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. این پاسخ مثبت نشان دهنده غلظت بوپرنورفین بالای سطح قابل ردیابی (۱۰ 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 تایید کننده 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

1- تست ریپید بوپرنورفین، 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.

2- احتمال خطا در این روش یا تکنیک وجود دارد. همان طور که مواد مداخله کننده در نمونه ادرار ممکن است موجب نتیجه اشتباه گردد.

3- 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.

4- یک نتیجه مثبت نشان دهنده وجود مواد یا متابولیت‌های آن می‌باشد. یک نتیجه منفی ممکن است الزاماً نشان دهنده عدم وجود مواد در ادرار نباشد. ممکن است سطح دارو کمتر از سطح قابل ردیابی توسط تست باشد.

5- تست توانایی تشخیص سو، مصرف از موارد معین درمانی را ندارد.

+ مقادیر مورد انتظار : اگر غلظت بوپرنورفین کمتر از  $10 \text{ ng/ml}$  باشد، نتیجه منفی خواهد شد و اگر غلظت آن بیشتر از  $10 \text{ ng/ml}$  باشد، نتیجه مثبت خواهد بود و تست بوپرنورفین دارای Cut off:  $10 \text{ ng/ml}$  می‌باشد.

## ویژگی اجرایی

**صحت:** یک روش مقایسه‌ای وجه به وجه (side by side) با استفاده از نوار تست ریپید بوپرنورفین و یک تست تجاری ریپید بوپرنورفین در دسترس، انجام شد. تست بر روی ۹۴ نمونه کلینیکی، که از قبل از افراد حاضر برای تست غربال مواد مخدر جمع آوری شده بود، انجام گردید.

Method	Other BUP Rapid Test		Total Result
	Positive	Negative	
The BUP Rapid Test	43	0	43
Dipstick	0	51	51
Total Result	43	51	94
%Agreement With this Rapid Test	>99.9%	>99.9%	>99.9%

مقایسه وجه به وجه (side by side) با استفاده از تست ریپید بوپرنورفین و (GC/MS) در سطح  $10 \text{ ng/ml}$  انجام گردید.

تست بر روی ۲۵ نمونه کلینیکی جمع آوری شده از موارد وجود مصرف مواد، انجام گردید که نتایج در جدول ذیل آمده است.

Method	GC/MS		Total Result
	Positive	Negative	
The BUP Rapid Test	105	0	105
Dipstick	1	144	145
Total Result	106	144	250
%Agreement With GC/MS	99.1%	99.9%	99.6%

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

$0 \text{ ng/ml}$  و  $5 \text{ ng/ml}$  و  $7.5 \text{ ng/ml}$  و  $10 \text{ ng/ml}$  و  $15 \text{ ng/ml}$  و  $30 \text{ ng/ml}$ . نتایج، صحت بالاتر از ۹۹ درصد در  $0 \text{ ng/ml}$  درصد نمونه‌ها با غلظت بالاتر از حد Cut-off و  $50 \text{ ng/ml}$  درصد با غلظت پایین‌تر از Cut-off را نشان دادند.

BUP Concentration (ng/ml)	Percent of Cut-off	n	Visual Result	
			Positive	Negative
0	0	30	30	0
5	-50%	30	30	0
7.5	-25%	30	26	4
10	Cut-off	30	14	16
12.5	+25%	30	3	27
15	+50%	30	0	30
30	3X	30	0	30

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

Compound	Concentration (ng/ml)	Compound	Concentration (ng/ml)
Buprenorphine	10	Buprenorphine 3-D-Glucuronide	50
Norbuprenorphine	50	3-D-Glucuronide Norbuprenorphine	100

## دقت

مطالعاتی 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 پنل از نمونه‌های کد گذاری شده حاوی غلظت بوپرنورفین معین بر اساس روش (GC/MS) در حد  $10 \text{ ng/ml}$ ،  $25 \text{ ng/ml}$  و  $50 \text{ ng/ml}$  و پایین حد مینیمم تشخیص و  $50 \text{ ng/ml}$  درصد بالا و پایین حد مینیمم تشخیص  $10 \text{ ng/ml}$  در هر مرکز استفاده شد.

BUP Concentration (ng/ml)	n per site	Site A		Site B		Site C	
		-	+	-	+	-	+
0	10	10	0	10	0	10	0
5	10	10	0	10	0	10	0
7.5	10	9	1	9	1	8	2
12.5	10	1	9	1	9	1	9
15	10	0	10	0	10	0	10

## اثر کشش مخصوص ادراری

به  $15 \text{ ng/ml}$  نمونه ادرار با وزن مخصوص کم، نرمال و بالا، بوپرنورفین با غلظت‌های  $5 \text{ ng/ml}$  و  $15 \text{ ng/ml}$  اضافه شد. سپس نمونه‌های خالص و نمونه‌های با غلظت مشخص بوپرنورفین توسط تست بوپرنورفین 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  $5 \text{ ng/ml}$  و  $15 \text{ ng/ml}$  از بوپرنورفین اضافه گردید. pH تنظیم شده ادرار با تست ریپید بوپرنورفین در تکرار دو تایی (Duplicate) انجام گردید، که نتایج نشان دهنده آن است که رنج pH با انجام تست تداخلی ندارد.

## تداخل بین واکنشی

مطالعاتی جهت بررسی تداخلات با نمونه‌های مثبت و منفی بوپرنورفین انجام شد. ترکیبات زیر هیچ تداخل واکنشی با نتایج تست بوپرنورفین در غلظت  $100 \text{ ng/ml}$  را نشان نداد.

Acetamidophenol 5,5-Diphenylhydantoin Lithium carbonate Trans-2- phenyl Acetone Disopyramide Loperamide cyclopropylamine Acetophenetidin Doxylamine Maprotiline L-Phenylephrine Acetylsalicylic acid Ecgonine hydrochloride Meperidine B-Phenylethylamine N-Acetylprocainamide Ecgonine methylester Mephentermine Phenylpropranolamine Albumin EDDP Meprobamate (D,L)-norephedrine Aminopyrine Efavirenz (Sustiva) Methadone (±) Phenylpropranolamine Amitriptyline EMDDP D-Methamphetamine Prednisolone Amobarbital Ephedrine L-Methamphetamine Prednisone Amoxapine (1r,2s)-(-)-Ephedrine Methaqualone 5 beta- Amoxicillin (-)-ψ-Ephedrine Methoxyphenamine pregnane-3α,17α- L-Amphetamine (±)-Epinephrine (-) 3,4-Methylenedioxy- 21triol 21 Ampicillin Erythromycin amphetamine (MDA) Procaine Apomorphine β-Estradiol (+) 3,4

Methylenedioxy- Promazine Aspartame Estrone-3-sulfate methamphetamine Promethazine Atropine Ethanol (Ethyl alcohol) Methylphenidate D,L-Propranolol Benzoic acid Ethyl-p-aminobenzoate Methylpyrrolone D-Proxopropylene Benzoic acid Etodolac Methaqualone D-Pseudoephedrine Benzoylcocaine Famprofazone Metoprolol Quinacrine Benzphetamine Fenfluramine Morphine sulfate Quinidine Bilirubin Fenoprofen Morphine- Quinine (±)-Brompheniramine Fentanyl 3-β-D-glucuronide Ranitidine Buspirone Fluoxetine Nalidixic acid Riboflavin Caffeine Fursemide Nalorphine Salicylic acid Cannabidiol Genticic acid Naloxone Secobarbital Cannabinol D (+) Glucose Naltrexone Serotonin Chloralhydrate Guaiaicol Glyceryl Ether Methylpyrrolone (5-hydroxytyramine) Chloramphenicol Guaiaicol Glyceryl Ether Metoprolol Sodium chloride Chlordiazepoxide carbamate Nimesulide Sulfamethazine Chloroquine Hemoglobin Norcodeine Sulindac Chlorothiazide Hydralazine Morphine sulfate Temazepam (+)-Chlorpheniramine Hydrochlorothiazide Alpha- Tetracycline (±)-Chlorpheniramine Hydrocodone Naphthaleneacetic Acid Tetrahydrocortisone, Chlorpromazine Hydrocortisone Norethindrone 3-acetate Chlorprothixene Hydromorphone Normorphine Tetrahydrozoline Cholesterol p-Hydroxyamphetamine D-Norpropoxyphene Thebaine Cimetidine O-Hydroxyhippuric acid Noscipine Theophylline Clomipramine p-Hydroxymethamphetamine D,L-Octopamine Thiamine Clonidine p-Hydroxynorephedrine Orphenadrine Thioridazine Cocaine HCl Hydroxyzine Oxalic acid (chlorpromazine) Codeine 3-Hydroxytyramine Oxazepam L-Thyroxine Cortisone Ibuprofen Oxolinic acid Tolbutamine (-) Cotinine Imipramine Oxycodone Cis-Tramadol Creatinine Iproniazid Oxymetazoline Trazodone Cyclobarbitol (-)-Isoproterenol Oxymorphone Triamterene Cyclobenzaprine Isosuprine Papaverine Trifluoperazine Deoxycorticosterone Kanamycin Pemoline Trimethobenzamide (-) Deoxyephedrine Ketamine Penicillin-G Trimethoprim R (-) Deprenyl HCl Ketoprofen Pentazocine Trimipramine Dextromethorphan Labetalol Pentobarbital Tryptamine Diazepam L-Ascorbic acid Perphenazine D, L-Tryptophan Didofenac L-Ephedrine Phencyclidine Tyramine Dicyclomine L-Epinephrine Phenelzine D, L-Tyrosine Diflunisal Levorphanol Pheniramine Uric acid Digoxin Lidocaine Phenobarbital Verapamil 4-Dimethylaminoantipyrine Lindane Phenothiazine Zomepirac Diphenhydramine (hexachlorocyclohexane) Phentermine

## منبع

1. Glass, IB. The International Handbook of Addiction Behavior. Routledge Publishing, New York, NY. 1991, 2162. Baselt RC. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man. 6th Ed. Biomedical Publ., Davis, CA., 129, 2002 3. Hawks RL, CN Chiang. Urine Testing for Drugs of Abuse. National Institute for Drug Abuse (NIDA), Research Monograph 73, 1986



**کارخانه:** شهرک صنعتی اشتهارد. بلوار ابویرحان بیرونی. بلوار غزالی غربی. خیابان لندن ۳  
**تلفن:** ۸-۱۳۷۷۷۵۵۳۱ (۰۲۶) **فکس:** ۳۷۷۷۵۵۳۹ (۰۲۶)

**خدمات پس از فروش:** ۰۹۱۲۹۴۰۹۱۳۴ **دفتر فروش:** ۰۲۶ ۸۸۶۴۹۰۷۶ (۰۲۱)