

ریپید تست بنزودیازپین (نوار تست)

Benzodiazepine Rapid Test (BZO) strip

مقدمه

این تست جهت تشخیص کیفی بنزودیازپین در ادرار می‌باشد که تنها برای استفاده دارویی و تشخیص *in vitro* مورد استفاده قرار می‌گیرد .

این تست بر اساس روش ایمنونوکروماتوگرافی عمل می‌نماید و حساسیت این تست 300 ng/ml می‌باشد (Cut off : 300 ng/ml).

این تست تنها فراهم کننده یک نتیجه ابتدایی است. یک روش جایگزین با اختصاصیت بیشتر به منظور تایید نتایج اولیه باید مورد استفاده قرار بگیرد که در این خصوص کروماتوگرافی گازی-اسپکترومتري جرمي (GC/MS) روش ارجح است. ملاحظات بالینی و تخصصی باید برای مورد سو، مصرف مواد به ویژه زمانیکه نتایج تست مثبت می‌باشند، به کار برده شود.

خلاصه

بنزودیازپین‌ها داروهایی هستند که به طور زیاد برای درمان اضطراب و اختلال خواب به کار برده می‌شود این داروها از طریق گیرنده‌های شیمیایی عصبی به نام اسید گاما آمینو بوتیریک تاثیر می‌گذارد (GABA). این داروها نسبت به باریتورات‌ها در درمان اضطراب و بی‌خوابی موثرتر و ایمن‌تر می‌باشد. بنزودیازپین بعنوان داروی مسکن قبل از عمل و کارهای پزشکی و برای درمان اختلالات سریع و ترک الکل استفاده می‌شود. اگر این دارو به طور مداوم استفاده بشود مثلاً روزانه به مدت چند ماه یا دُز بالاتر از نرمال، ریسک اعتیاد به این دارو بالا می‌رود. قطع ناگهانی دارو باعث مشکلاتی مانند مشکلات معده، اختلال خواب، حس ناخوشایند، بی‌اشتهایی، عرق، لرزش، ضعف، اضطراب و تغییرات در هوشیاری به وجود می‌آورد. این دارو را می‌توان پس از مصرف به مدت کمتر از یک ماه در ادرار ردیابی کرد. بیشتر غلظت آن در ادرار به شکل داروی کنتروله می‌باشد. ردیابی دوره بنزودیازپین در ادرار به مدت ۳ تا ۷ روز می‌باشد. نوار تست سریع ادرار BZO یک تست غربالگری سریع ادرار می‌باشد که می‌تواند بدون وسایل آزمایشگاهی انجام شود. در این

آزمایش از آنتی بادی به طور اختصاصی برای ردیابی بنزودیازپین بالاتر از حد استاندارد در ادرار استفاده می‌شود. سطح استاندارد این ماده در ادرار اگر بالاتر از حد مجاز باشد نتیجه مثبت می‌شود .

دستور العمل استفاده

نوار تست ریپید ادرار بنزودیازپین یک روش ایمنونواسی 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 موئینگی به سمت بالا حرکت می‌کند. اگر بنزودیازپین موجود در ادرار زیر 300 ng/ml باشد محل‌های اتصال به ذرات پوشیده شده از آنتی‌بادی را در تست پر نمی‌کند. آنتی‌بادی که بر روی ذرات موجود است به وسیله بنزودیازپین ترکیب شده جذب خواهد شد و از خود یک خط رنگی در ناحیه خط تست (T) برجای خواهد گذاشت. چنانچه سطح بنزودیازپین بالای 300 ng/ml باشد خط رنگی در ناحیه خط تست (T) ظاهر نخواهد شد زیرا همه محل‌های اتصال آنتی‌بادی‌های بنزودیازپین را اشغال می‌کند. اگر وجود بنزودیازپین 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 بنزودیازپین 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 بنزودیازپین و ترکیب پروتئین-بنزودیازپین کنتروله شده می‌باشد. آنتی بادی ثانویه تهیه شده در گونه بز نیز برای خط کنترل به کار گرفته شده است.

+ احتیاط: تنها برای استفاده تشخیص *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 ($2-30^{\circ}\text{C}$). تست تا زمان تاریخ انقضای درج شده بر روی بسته معتبر می‌باشد. از یخ زدگی محافظت شود و پس از تاریخ انقضا، استفاده نشود.

جمع‌آوری و آماده سازی نمونه

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

+ نگهداری نمونه : نمونه ادرار می‌تواند در دمای $8-20^{\circ}\text{C}$ برای بیشتر از ۴۸ ساعت نگهداری شود و برای ذخیره طولانی مدت در دمای $2-4^{\circ}\text{C}$ 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

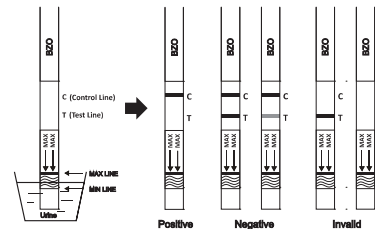
راهنمای استفاده

قبل از انجام آزمایش اجازه دهید نوار تست و نمونه ادرار به دمای اتاق برسد ($15-30^{\circ}\text{C}$). 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 جهتی 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 بنزودیازپین کمتر از سطح قابل ردیابی (300 ng/ml) می‌باشد.

+ توجه : شدت رنگ در ناحیه تست ممکن است متغیر باشد، ولی آشکار شدن خط رنگی حتی اگر خط کم رنگ 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 بنزودیازپین بالای سطح قابل ردیابی (300 ng/ml) می‌باشد.

نامعتبر : خط کنترل (C) تشکیل نمی‌شود. حجم ناکافی نمونه یا روش اجرا 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 یا کنترل‌های مثبت و منفی در یک آزمایشگاه معتبر برای تایید روش و صحت انجام تست توصیه می‌گردد.

محدودیت

1- تست ریپید بنزودیازپین ، فقط نتایج اولیه آنالیتی و کیفی فراهم می‌کند و متد ثانویه آنالیتی دیگری برای تایید نتایج باید به کار گرفته شود. کروماتوگرافی گازی / اسپکترومتري (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 سفید کننده‌ها 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

Amobarbital	Doxylamine	(±) - 3,4-Methylenedioxy-	Promethazine
Amoxicillin	Ecgonine	amphetamine	DL-Propriololol
Ampicillin	Econine methylester	(±) - 3,4-Methylenedioxy-	D-Propoxyphene
L-Ascorbic acid	(-)ψ-Ephedrine	methamphetamine	D-Pseudoephedrine
DL-Amphetamine sulfate	(1R,2S) (-) Ephedrine	Morphine-3-β-D glucuronide	Quinacrine
Apomorphine	(L) - Epinephrine	Morphine Sulfate	Quinidine
Aspartame	Erythromycin	Naproxen	Serotonin
β-Estradiol	Nalidixic acid	Quinine	Sulfamethazine
Atropine	Naloxone	Ranitidine	Sulindac
Benzoic acid	Estrone-3-sulfate	Naltrexone	Salicylic acid
Benzoic acid	Ethyl-p-aminobenzoate	Naproxen	Serobarbital
Benzoflecgonine	Fengrofen	Niacinamide	Serotonin
Benzphetamine	Furosemide	Nifedipine	Sulfamethazine
Bilirubin	Gentisic acid	Norcodein	Sulindac
(±) - Brompheniramine	Hemoglobin	Norethindrone	Tetracycline
Caffeine	Hydralazine	D-Norpropoxyphene	Tetrahydrocortisone,
Cannabidiol	Hydrochlorothiazide	Noscapine	3-Acetate
Cannabiol	Hydrocodone	DL-Octopamine	Tetrahydrocortisone
Chloralhydrate	Hydrocortisone	Oxalic acid	3-(β-D-glucuronide)
Chloramphenicol	O-Hydroxyhippuric acid	Oxolinic acid	Tetrahydrozoline
Chlorothiazide	p-Hydroxyamphetamine	Oxycodone	Thiamine
(±) - Chlorpheniramine	p-Hydroxy-	Oxymetazoline	Thioridazine
Chlorpromazine	methamphetamine	Papaverine	DL-Tyrosine
Chloroquine	3-Hydroxytyramine	Penicillin-G	Tolbutamide
Cholesterol	Ibuprofen	Pentazocine	Triamterene
Clomipramine	Imipramine	Pentobarbital	Trifluoperazine
Clonidine	Iproniazid	Perphenazine	Trimethoprim
Cocacethylene	(±) - Isoproterenol	Phencyclidine	Trimipramine
Cocaine	Isosuxiprine	Phenazine	Tryptamine
Codeine	Ketamine	Phenobarbital	DL-Tryptophan
Cortisone	Ketoprofen	Phentermine	Tyramine
(-) Cotinine	Labetalol	Trans-2-phenylcyclo-	Uric acid
Creathine	Loperamide	propylamine hydrochloride	Verapamil
Maprotiline	L-Phenylephrine	Zomepirac	

مختلف محصول جهت ارزیابی دقت داخل مرحله‌ای، بین مرحله‌ای و بین فردی انجام گردید. یک پتل از نمونه‌های کدگذاری شده حاوی غلظت Oxazepam معین براساس روش (GC/MS) در حد ۲۵۰ ng/ml و ۵ درصد با و پایین حد مینیمم تشخیص و ۵۰ درصد با و پایین حد مینیمم تشخیص ۳۰۰ ng/ml در هر مرکز استفاده شد.

Oxazepam Concentration (ng/ml)	n per site	Site A		Site B		Site C	
		-	+	-	+	-	+
0	10	10	0	10	0	10	0
150	10	10	0	10	0	10	0
225	10	9	1	9	1	9	1
375	10	1	9	1	9	1	9
450	10	0	10	0	10	0	10

اثر کشش مخصوص اداری

به ۱ نمونه ادرار با وزن مخصوص کم، نرمال و با ۱۵۰ ng/ml و Oxazepam با غلظت‌های ۱۵۰ ng/ml اضافه شد. سپس نمونه‌های خالص و نمونه‌های با غلظت مشخص Oxazepam توسط تست بنزودیازپین بررسی شدند. نتایج بیانگر عدم تاثیر گذاری وزن مخصوص بر نتایج آزمایش است.

اثر pH اداری

pH نمونه منفی ادرار رقیق شده از رنج ۵ تا ۹ تغییر داده شد و به نمونه‌ها، غلظت‌های ۱۵۰ ng/ml و ۴۵۰ ng/ml Oxazepam اضافه گردید. pH تنظیم شده ادرار با تست ریپید بنزودیازپین در تکرار دو تایی (Duplicate) انجام گردید که نتایج نشان دهنده آن است که pH با انجام تست تداخلی ندارد.

تداخل بین واکنشی

مطالعه‌ای جهت بررسی تداخل با نمونه‌های مثبت و منفی Oxazepam انجام شد. ترکیبات زیر هیچ تداخل واکنشی با نتایج تست بنزودیازپین در غلظت ۱۰۰ µg/ml را نشان نداد.

Acetaminophen	Deoxycorticosterone	MDDE	β-Phenylethylamine
Acetophenetidin	Dextromethorphan	Mepredine	Phenylpropanolamine
N-Acetylprocainamide	Diclofenac	Meprobamate	Prednisolone
Acetylsalicylic acid	Diffunisal	Methadone	Prednisone
Aminopyrine	Digoxin	L-Methamphetamine	Procaine
Amitriptyline	Diphenhydramine	Methoxyphenamine	Promazine

ng/ml و ۱۵۰ ng/ml و ۲۲۵ ng/ml و ۳۰۰ ng/ml و ۳۷۵ ng/ml و ۴۵۰ ng/ml . نتایج، محت بالاتر از ۹۹ درصد را در ۵۰ درصد نمونه‌ها با غلظت بالاتر از حد cut-off و ۵۰ درصد با غلظت پایین‌تر از cut off را نشان دادند.

Oxazepam Concentration (ng/ml)	Percent of Cut-off	n	Visual Result	
			Positive	Negative
0	0	30	30	0
150	-50%	30	30	0
225	-25%	30	27	3
300	Cut-off	30	15	15
375	+25%	30	3	27
450	+50%	30	0	30
900	3X	30	0	30

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

Compound	Concentration (ng/ml)	Compound	Concentration (ng/ml)
Alprazolam	100	Flunitrazepam	200
a-hydroxyalprazolam	1,500	(±) Lorazepam	3,000
Bromazepam	900	RS-Lorazepam glucuronide	200
Chlordiazepoxide	900	Midazolam	6,000
Clobazam	200	Nitrazepam	200
Clonazepam	500	Norchlordiazepoxide	100
Clorazepate dipotassium	500	Nordiazepam	900
Delorazepam	900	Oxazepam	300
Desalkylflurazepam	200	Temazepam	100
Diazepam	300	Triazolam	3,000
Estazolam	6,000		

دقت

مطالعه‌ای در سه سایت (کلینیک) مختلف توسط افراد آموزش ندیده با استفاده از سه لات

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 بنزودیازپین کمتر از ۳۰۰ ng/ml باشد، نتیجه منفی خواهد شد و اگر غلظت آن بیشتر از ۳۰۰ ng/ml باشد، نتیجه مثبت خواهد بود. تست بنزودیازپین دارای، Cut-off = ۳۰۰ ng/ml می‌باشد.

ویژگی اجرایی

صحت: یک روش مقایسه ای وجه به وجه (side by side) با استفاده از نوار تست ریپید بنزودیازپین و یک تست تجاری ریپید بنزودیازپین در دسترس، انجام شد. تست بر روی ۹۵ نمونه کلینیکی، که از قبل از افراد حاضر برای تست غربال مواد مخدر جمع آوری شده بود، انجام گردید.

Method	Other BZO Rapid Test		Total Result
	Positive	Negative	
The BZO Rapid Test Dipstick	43	0	43
	0	52	52
Total Result	43	52	95
%Agreement With this Rapid Test	>99.9%	>99.9%	>99.9%

مقایسه وجه به وجه (side by side) با استفاده از تست ریپید بنزودیازپین و (GC/MS) در سطح ng/ml ۳۰۰ انجام گردید.

تست بر روی ۲۵۰ 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 BZO Rapid Test Dipstick	121	1	122
	2	126	128
Total Result	123	127	250
%Agreement With GC/MS	98.4%	99.2%	98.8%

حساسیت آنالیتیکی: جمعی از نمونه‌های اداری فاقد دارو در غلظت‌های زیر از Oxazepam تهیه گردید.

منبع

- Baselt RC. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man. 2nd Ed. Biomedical Publ., Davis, CA. 1982; 488
- Hawks RL, CN Chiang. Urine Testing for Drugs of Abuse. National Institute for Drug Abuse (NIDA), Research Monograph 73, 1986



کارخانه: شهر صنعتی اشتهارد، بلوار ابوریحان بیرونی، بلوار غزالی غربی، خیابان لندن ۲
تلفن: ۰۲۱-۳۷۷۷۵۵۳۱-۸
فکس: ۰۲۱-۳۷۷۷۵۵۳۹

خدمات پس از فروش: ۰۲۱-۸۸۶۴۹۰۷۶
دفتر فروش: ۰۲۱-۹۱۳۴۰۹۱۴