

## رپید تست باربیتورات (نوار تست) Barbiturate Rapid Test (BAR) strip

### مقدمه

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

این تست بر اساس روش ایمنوگروماتوگرافی عمل می‌نماید و حساسیت این تست  $300 \text{ ng/ml}$  می‌باشد (Cut off:  $300 \text{ ng/ml}$ ).

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 زمانیکه نتایج تست مثبت می‌باشند، به کار برده شود.

### خلاصه

باربیتورات: این دارو با کاهش تحریر پدپیری در نورون عمل می‌کند. باربیتوراتها به عنوان داروی مسکن، هیپنوتیک و ضد تشنج مورد استفاده درمانی قرار می‌گیرد. این دارو عموماً به صورت خوراکی به شکل کپسول یا قرص مصرف می‌شود. مقدار مصرف این دارو برای کوتاه مدت  $400 \text{ mg}$  میلی‌گرم در روز به مدت ۲ تا ۳ ماه می‌باشد. این دارو از لحاظ کلینیکی به طور قابل توجهی اعتیادآور می‌باشد. نشانه‌های کاهش دارو پس از پرهیز از استعمال دارو به قدری شدید است که می‌تواند کشنده باشد. تنها مقدار خیلی کمی از دارو (کمتر از ۵ درصد) از طریق ادرار دفع می‌شود. دوره ردیابی باربیتوراتها در ادرار ۴ تا ۷ روز می‌باشد.

### دستور العمل استفاده

تست رپید ادرار باربیتورات 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 باربیتورات موجود در ادرار زیر  $300 \text{ ng/ml}$  باشد محل‌های اتصال به ذرات پوشیده شده از آنتی‌بادی را در تست پر نمی‌کند. آنتی‌بادی که بر روی ذرات موجود است به وسیله باربیتورات ترکیب شده جذب خواهد شد و از خود یک خط رنگی در ناحیه خط تست (T) برجای خواهد گذاشت. چنانچه سطح باربیتورات بالای  $300 \text{ ng/ml}$  باشد خط رنگی در ناحیه خط تست (T) ظاهر نخواهد شد زیرا همه محل‌های اتصال آنتی‌بادی‌های باربیتورات را اشغال می‌کند. اگر وجود باربیتورات 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 باربیتورات 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 آنتی‌بادی مونوکلونال ضد باربیتورات و ترکیب پروتئین-باربیتورات کژوگه شده می‌باشد. آنتی‌بادی بز در خط کنترل (C) به کار برده می‌شود.

**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 ( $2-30^{\circ}\text{C}$ ). 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  $20^{\circ}\text{C}$  - 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
- تایپر

### راهنمای استفاده

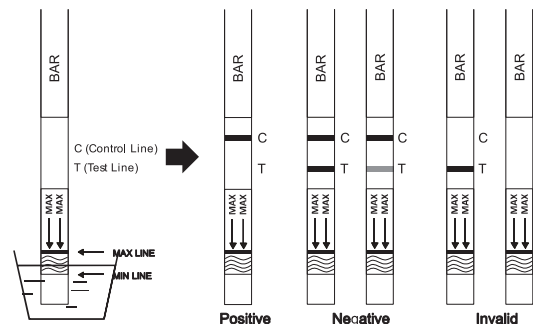
قبل از انجام آزمایش اجازه دهید نوار تست و نمونه ادرار به دمای اتاق برسد ( $15-30^{\circ}\text{C}$ ).

• قبل از باز کردن بسته، اجازه دهید دمای نوار تست به دمای اتاق برسد، نوار تست را از پوشش جدا کرده و حمامکان 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 - ۱ 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 باربیتورات کمتر از سطح قابل ردیابی ( $300 \text{ ng/ml}$ ) می‌باشد.

**+** توجه: شدت رنگ در ناحیه تست 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 باربیتورات بالای سطح قابل ردیابی ( $300 \text{ ng/ml}$ ) 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- رپید تست باربیتورات، 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 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

Amoxicillin	Ecgonine hydrochloride	(±) - 3,4-Methylenedioxy-	DL-Propranolol
Ampicillin	Ecgonine methylester	amphetamine	D-Propoxyphene
L-Ascorbic acid	(-) - $\psi$ -Ephedrine	(±) - 3,4-Methylenedioxy	D-Pseudoephedrine
DL-Amphetamine sulfate	(1R,2S) (-) Ephedrine	methamphetamine	Quinacrine
Apomorphine	L- Epinephrine	Morphine-3- $\beta$ -D glucuronide	Quinidine
Aspartame	Erythromycin	Morphine Sulfate	Quinine
Atropine	$\beta$ -Estradiol	Nalidixic acid	Ranitidine
Benzoic acid	Estrone-3-sulfate	Naloxone	Salicylic acid
Benzoic acid	Ethyl-p-aminobenzoate	Naltrexone	Serotonin
Benzoylcegonine	Fenpropfen	Naproxen	Sulfamethazine
Benzphetamine	Furosemide	Niacinamide	Sulindac
Bilirubin	Gentisic acid	Nifedipine	Temazepam
(±) - Brompheniramine	Hemoglobin	Norcocleidin	Tetracycline
Caffeine	Hydralazine	Norethindrone	Tetrahydrocortisone,
Cannabidiol	Hydrochlorothiazide	D-Norpropoxyphene	3-Acetate
Cannabitol	Hydrocodone	Noscapine	Tetrahydrocortisone
Chloralhydrate	Hydrocortisone	DL-Octopamine	3-( $\beta$ -D-glucuronide)
Chloramphenicol	O-Hydroxyhippuric acid	Oxalic acid	Tetrahydrozoline
Chlorothiazide	p-Hydroxyamphetamine	Oxazepam	Thiamine
(±) - Chlorpheniramine	p-Hydroxy-	Oxolinic acid	Thioridazine
Chlorpromazine	methamphetamine	Oxycodone	DL-Tyrosine
Chlorquine	3-Hydroxytyramine	Oxymetazoline	Tolbutamide
Cholesterol	Ibuprofen	Papaverine	Triamterene
Clomipramine	Imipramine	Penicillin-G	Trifluoperazine
Clonidine	Iproniazid	Pentazocine hydrochloride	Trimethoprim
Cocacethylene	(±) - Isoproterenol	Perphenazine	Trimipramine
Cocaine hydrochloride	Isosuprine	Phencyclidine	Tryptamine
Codeine	Ketamine	Phenelzine	DL-Tryptophan
Cortisone	Ketoprofen	Termination	Tyramine
(-) Cotinine	Labetalol	Trans-2-phenylcyclo-	Uric acid
Creatinine	Levorphanol	propylamine hydrochloride	Verapamil
Deoxycorticosterone	Loperamide	L-Phenylephrine	Zomepirac
Dextromethorphan	Maprotiline	$\beta$ -Phenylethylamine	

یک پتل از نمونه‌های کد گذاری شده حاوی غلظت Secobarbital معین بر اساس روش (GC/MS) در حد ۲۵،۰ ng/ml درصد بالا و پایین حد مینیمم تشخیص و ۵ درصد بالا و پایین حد مینیمم تشخیص ng/ml ۳۰۰ در هر مرکز استفاده شد.

Secobarbital 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	8	2	9	1
375	10	2	8	1	9	2	8
450	10	0	10	0	10	0	10

### اثر کشش مخصوص اداری

به ۱۵ نمونه اداری با وزن مخصوص کم، نرمال و بالا، Secobarbital با غلظت‌های ۱۵۰ ng/ml و ۴۵۰ ng/ml اضافه شد. سپس نمونه‌های خالص و نمونه‌های با غلظت مشخص Secobarbital توسط تست باربی‌تورات بررسی شدند. نتایج بیانگر عدم تاثیر گذاری وزن مخصوص بر نتایج آزمایش است.

### اثر pH اداری

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

### تداخل بین واکنشی

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

Acetaminophenol	Diazepam	MDE	Phenylpropanolamine
Acetophenetidin	Diclofenac	Meperidine	Prednisolone
N-Acetylprocainamide	Diffunisal	Meprobamate	Prednisone
Acetylsalicylic acid	Digoxin	Methadone	Procaine
Aminopyrine	Diphenhydramine	L-Methamphetamine	Promazine
Amitryptiline	Doxylamine	Methoxyphenamine	Promethazine

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

۰ ng/ml و ۱۵۰ ng/ml و ۲۲۵ ng/ml و ۳۰۰ ng/ml و ۳۷۵ ng/ml و ۴۵۰ ng/ml نتایج، صحت 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.

Secobarbital 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 اداری در مدت زمان ۵ دقیقه توسط نوار تست باربی‌تورات شناسایی شدند را نشان می‌دهد.

Compound	Concentration (ng/ml)	Compound	Concentration (ng/ml)
Amobarbital	5,000	Cyclopentobarbital	30,000
5,5-Diphenylhydantoin	8,000	Pentobarbital	8,000
Allobarbital	600	Alphenol	600
Barbital	8,000	Aprobarbital	500
Talbutal	200	Butabarbital	200
Butalbital	8,000	Butethal	500
Phenobarbital	300	Secobarbital	300

### دقت

مطالعه‌ای 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.

ممکن است اثر انما نشان دهنده عدم وجود مواد در اداری 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 باربی‌تورات 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 باربی‌تورات اداری، Cut-off = ۳۰۰ ng/ml می‌باشد.

### ویژگی اجرایی

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

Method	Other BAR Rapid Test		Total Result
	Positive	Negative	
The BAR Rapid Test Dipstick	Results		
	Positive	37	0
	Negative	0	58
Total Result	37	58	95
%Agreement With this Rapid Test	>99.9%	>99.9%	>99.9%

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

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

Method	GC/MS		Total Result
	Positive	Negative	
The BAR Rapid Test Dipstick	Results		
	Positive	98	2
	Negative	4	146
Total Result	102	148	250
%Agreement With GC/MS	96.1%	98.6%	97.6%

### منابع

1. Tietz NW. Textbook of Clinical Chemistry. W.B. Saunders Company. 1986; 1735
2. Baselt RC. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man. 2nd Ed. Biomedical Publ., Davis, CA. 1982; 488
3. 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 ابویرحان بیرونی، بلوار غزالی غربی، خیابان لندن ۴  
 تلفن: ۸-۱۳۷۷۷۵۵۳۱-۰۴۶  
 فکس: ۰۴۶-۱۳۷۷۷۵۵۳۹

خدمات پس از فروش: ۰۹۱۲۹۴۰۹۱۳۴  
 دفتر فروش: ۰۲۶-۸۸۶۴۹۰۷۶ (۰۲۶)