

تست رپید بوپرنورفین (نوار تست)

BUP Rapid Test (Strip)



REF	HG-DBU-101	شماره بروشور
-----	------------	--------------

مقدمه

این تست جهت تشخیص کیفی بوپرنورفین 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 ۱۰ ng/mL می‌باشد (Cut off: 10 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 سوءمصرف 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 Subutex, Buprenex, Temgesic, Suboxone، در ترکیب با Naloxone HCl می‌باشد. از لحاظ درمانی بوپرنورفین درمان جایگزین برای معتادین به مواد مخدر می‌باشد. درمان جایگزین یک روش از مراقبت‌های پزشکی می‌باشد که برای معتادین (مثل هروئین) استفاده می‌شود. 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 تایید درمانی باشد اما تا رنج ۲۰ ng/mL در موارد سوءمصرف نیز می‌رسد. نیمه عمر پلاسمای بوپرنورفین ۲ تا ۴ ساعت می‌باشد در حالی که حذف کامل یک دز آن حدود ۶ روز طول می‌کشد، منشاء ردیابی برای داروی مادر در ادرار تقریباً سه روز می‌باشد. رپید

01

تست بوپرنورفین یک غربالگری سریع نمونه‌های ادرار می‌باشد که می‌توان بدون استفاده از وسایل آزمایشگاهی آن را انجام داد. این تست از آنتی‌بادی مونوکلونال برای تشخیص اختصاصی سطح بالای بوپرنورفین در ادرار استفاده می‌شود. رپید تست BUP در شرایطی مثبت می‌شود که بوپرنورفین در ادرار بیش از ۱۰ ng/mL برسد.

اساس روش

تست رپید بوپرنورفین یک روش ایمنونوکروماتوگرافی 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 موینگی به سمت بالا حرکت می‌کند. اگر بوپرنورفین موجود در ادرار زیر ۱۰ ng/mL باشد محل‌های اتصال به آنتی‌بادی پوشیده شده با نانوذرات طلا را پر نمی‌کند. آنتی‌بادی کونژوگه شده با نانوپارتیکل طلا به وسیله بوپرنورفین موجود در سطح ممبران جذب خواهد شد و از خود یک خط رنگی در ناحیه خط تست (T) بر جای خواهد گذاشت. چنانچه سطح بوپرنورفین بالای ۱۰ ng/mL باشد خط رنگی در ناحیه خط تست (T) ظاهر نخواهد شد زیرا همه محل‌های اتصال آنتی‌بادی‌های بوپرنورفین را اشغال می‌کند. بنابراین 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 غشاء افزوده شده است.

ترکیبات

نوار تست حاوی ذرات متصل به آنتی‌بادی مونوکلونال ضد بوپرنورفین و ترکیب پروتئین - بوپرنورفین کونژوگه شده می‌باشد. آنتی‌بادی 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 انقضاء مصرف نشود. تست تا زمان استفاده باید در بسته‌بندی 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 بسته‌بندی شده در دمای اتاق یا یخچال نگهداری شود (2-30°C). تست تا زمان تاریخ انقضای درج شده بر روی بسته معتبر می‌باشد. از یخ‌زدگی محافظت شود.

02

جمع‌آوری و آماده‌سازی نمونه

+ جمع‌آوری ادرار: نمونه ادرار باید در یک ظرف تمیز جمع‌آوری گردد، نمونه ادرار در هر زمان از روز می‌تواند جمع‌آوری گردد.

+ نگهداری نمونه: نمونه ادرار می‌تواند در دمای ۲-۸°C برای بیشتر از ۴۸ ساعت نگهداری شود و برای ذخیره طولانی مدت در دمای ۲۰°C- فریز گردد. نمونه‌های فریز شده باید قبل از تست، ذوب و ترکیب گردد.

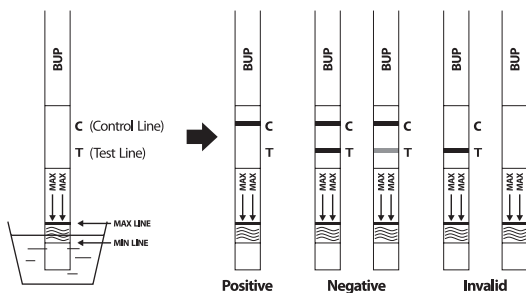
محتویات و لوازم مورد نیاز

مواد موجود در کیت: + بروشور + نوار تست
مواد مورد نیاز که در کیت وجود ندارد: + ظرف جمع‌آوری نمونه + تایمر

راهنمای استفاده

قبل از انجام آزمایش اجازه دهید نوار تست و نمونه ادرار به دمای اتاق برسد (18-30°C).

- نوار تست را از پوشش آلومینیومی خارج کرده و تا حد امکان 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.
- + نتایج را بعد از ۱۰ دقیقه تفسیر نکنید.



03

تفسیر نتایج

منفی: دو خط آشکار می‌شود یک خط باید در ناحیه کنترل (C) و خط رنگی دیگر در ناحیه تست (T) ظاهر شود. این نتیجه منفی نشان‌دهنده آن است که غلظت بوپرنورفین کمتر از سطح قابل ردیابی (۱۰ 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. پاسخ مثبت نشان‌دهنده 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 تاییدکننده 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

۱. تست رپید 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.
۲. احتمال خطا در این روش یا تکنیک وجود دارد. همان‌طور که مواد مداخله‌کننده در نمونه ادرار ممکن است موجب نتیجه اشتباه گردد.
۳. 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.

04

BUP Concentration (ng/mL)	n per site	LOT A		LOT B		LOT 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 ۱۵ نمونه ادرار با وزن مخصوص کم، نرمال و بالا، بوپرنورفین با غلظت‌های ۵ ng/mL و ۱۵ 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 ۱۵ ng/mL و ۵ ng/mL از بوپرنورفین اضافه گردید. pH تنظیم شده ادرار با تست رپید بوپرنورفین در تکرار دو تایی (Duplicate) انجام گردید، که نتایج نشان‌دهنده آن است که رنج pH با انجام تست تداخلی ندارد.

تداخل بین واکنشی

مطالعه‌ای جهت بررسی تداخلات با نمونه‌های مثبت و منفی بوپرنورفین انجام شد. ترکیبات زیر هیچ تداخل واکنشی با نتایج تست بوپرنورفین در غلظت ۱۰۰ µg/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 Phenylpropanolamine Albumin EDDP Meprobamate (D,L-norephedrine Aminopyrine Efavirenz (Sustiva) Methadone (±) Phenylpropanolamine Amitriptyline EMDP D-Methamphetamine Prednisolone Amobarbital Ephedrine L-Methamphetamine Prednisone Amoxapine (1r,2s)-(-)Ephedrine Methaqualone 5 beta- Amoxicillin (-)-ψ-Ephedrine Methoxyphenamine pregnane3alpha17alpha-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-Propanolol Benzoic acid Ethyl-p-aminobenzoate Methypyrrolon D-Propoxyphene Benzoic acid Etodolac Methaqualone D-Pseudoephedrine Benzoylcgonine Famprofazone Metoprolol Quinacrine Benzphetamine Fenfluramine Morphine sulfate Quinidine Bilirubin Fenpropfen

۴. یک نتیجه مثبت نشان‌دهنده وجود مواد یا متابولیت‌های آن می‌باشد. یک نتیجه منفی ممکن است الزاما نشان‌دهنده عدم وجود مواد در ادرار نباشد. ممکن است سطح دارو کمتر از سطح قابل ردیابی توسط تست باشد.

۵. تست، توانایی تشخیص سوءمصرف از موارد معین درمانی را ندارد.

+ مقادیر مورد انتظار: اگر غلظت بوپرنورفین کمتر از ۱۰ ng/mL باشد، نتیجه منفی خواهد شد و اگر غلظت آن بیشتر از ۱۰ ng/mL باشد، نتیجه مثبت خواهد بود. تست بوپرنورفین دارای Cut off: 10 ng/mL می‌باشد.

ویژگی اجرایی

صحت: نتایج بدست آمده از نوار تست بوپرنورفین هائازن با نتایج بدست آمده از کیت دیگر تجاری در دسترس، مقایسه شد. در مطالعه بر روی ۹۴ نمونه ادرار، شامل ۴۳ نمونه مثبت و ۵۱ نمونه منفی، کیت هائازن ۴۳ نمونه را مثبت و ۵۱ نمونه را منفی شناسایی کرد. نتایج بدست آمده در جدول زیر ارائه شده است.

Method	other BUP Rapid Test		Total Result
	Results	Positive	
	Positive	43	43
The BUP Rapid Test Dipstick	Negative	0	51
	Negative	51	51
Total Result		43	51
Total Result		94	94
% Agreement with this Rapid Test		> 99.9%	> 99.9%

به منظور مقایسه نتایج کیت تشخیص سریع بوپرنورفین هائازن با روش (GC/MS)، ۲۵۰ نمونه کلینیکی (۱۰۶ نمونه مثبت و ۱۴۴ نمونه منفی) جمع‌آوری شد، که کیت هائازن ۱۰۵ نمونه را مثبت و ۱۴۴ نمونه را منفی شناسایی کرد. نتایج بدست آمده در جدول زیر ارائه شده است.

Method	GC/MS		Total Result
	Results	Positive	
	Positive	105	105
The BUP Rapid Test Dipstick	Negative	0	145
	Negative	1	144
Total Result		106	144
Total Result		250	250
Relative Sensitivity: 99.1%		Relative Specificity: > 99%	
Total Agreement: 99.6%			

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

۰ ng/mL و ۵ ng/mL و ۷/۵ ng/mL و ۱۰ ng/mL و ۱۲/۵ ng/mL و ۱۵ ng/mL و ۳۰ 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.

BUP Concentration (ng/mL)	Percent of Cut-off	n	Visual Result	
			Negative	Positive
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)
Buprenorphine	10
Norbuprenorphine	50
Buprenorphine 3-D-Glucuronide	50
3-D-Glucuronide Norbuprenorphine	100

دقت

مطالعه‌ای در سه مرکز 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 کدگذاری شده حاوی غلظت بوپرنورفین معین بر اساس روش (GC/MS) در حد ۰ ng/mL، ۲۵ درصد بالا و پایین حد مینیمم تشخیص و ۵۰ درصد بالا و پایین حد مینیمم تشخیص ۱۰ ng/mL در هر مرکز استفاده شد.

07

Morphine- Quinine (±)-Brompheniramine Fentanyl 3-β-D-glucuronide Ranitidine Buspirone Fluoxetine Nalidixic acid Riboflavin Caffeine Furosemide Nalorphine Salicylic acid Cannabidiol Gentisic acid Naloxone Secobarbital Cannabinol D (+) Glucose Naltrexone Serotonin Chloralhydrate Guaiacol Glyceryl Ether Methypyrrolon (5-hydroxytyramine) Chloramphenicol Guaiacol 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 Noscaphine 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 Isoxsuprine Papaverine Trifluoperazine Deoxycorticosterone Penicillin Trimethoprim R (-) Deprenyl HCl Ketoprofen Pentazocine Trimipramine Dextromethorphan Labetalol Pentobarbital Tryptamine Diazepam L-Ascorbic acid Perphenazine D, L-Tryptophan Diclofenac L-Ephedrine Phencyclidine Tyramine Dicyclomine L-Epinephrine Phenelzine D, L-Tyrosine Diflunisal Levorphanol Pheniramine Uric acid Digoxin Lidocaine Phenobarbital Verapamil 4-Dimethylaminoantipyrine Lindane Phentothiazine Zomepirac Diphenhydramine (hexachlorocyclohexane) Phentermine

منابع

- Glass, IB. The International Handbook of Addiction Behavior. Routledge Publishing, New York, NY. 1991, 216
- Baselt RC. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man. 6th Ed. Biomedical Publ., Davis, CA., 129, 2002
- Hawks RL, CN Chiang. Urine Testing for Drugs of Abuse. National Institute for Drug Abuse (NIDA), Research Monograph 73, 1986



کارخانه: کیلومتر ۵ آزادراه کرج - قزوین، شهرک صنعتی بهارستان، خیابان گلستان پنجم، پلاک ۱۱۹

تلفن: ۰۲۶ ۳۶۱۸ ۱۰۰۰

خدمات پس از فروش: ۰۲۶ ۳۲۱ ۰۹۹۳

ایمیل: info@hanagene.com

www.hanagene.com

06