

ریپید تست بنزودیازپین (نوار تست)

Benzodiazepine Rapid Test (BZO) strip



شماره بروشور HG-DBZ-101 REF

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 ۳۰۰ ng/mL می‌باشد (Cut off: 300 ng/mL).

این تست تنها فراهم‌کننده 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 - اسپکترومتری جرمی (GC/MS) روش ارجح است. ملاحظات بالینی و تخصصی باید برای مورد سوء مصرف مواد به ویژه زمانیکه نتایج تست مثبت می‌باشند، به کار برده شود.

خلاصه

بنزودیازپین‌ها داروهایی هستند که برای درمان اضطراب و اختلال خواب به کار برده می‌شود. این دارو ها از طریق گیرنده‌های شیمیایی عصبی به نام اسید گاما آمینو بوتریک (GABA) تاثیر می‌گذارد و 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 صرع و ترک الکل استفاده می‌شود. اگر این دارو به طور مداوم استفاده شود مثلاً روزانه به مدت چند ماه یا دوز بالاتر از نرمال، ریسک اعتیاد به این دارو بالا می‌رود. قطع ناگهانی دارو مشکلاتی مانند مشکلات معده، اختلال خواب، حس ناخوشایند، بی‌اشتهایی، عرق، لرزش، ضعف، اضطراب و تغییرات در هوشیاری را 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 کنژوگه 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

01

بدون وسایل آزمایشگاهی انجام شود. در این تست از آنتی‌بادی مونوکلونال برای تشخیص اختصاصی سطح بالای بنزودیازپین در ادرار استفاده می‌شود. ریپید تست BZO در شرایطی مثبت می‌شود که میزان بنزودیازپین در ادرار بیش از ۳۰۰ ng/mL برسد.

اساس روش

نوار تست ریپید ادرار بنزودیازپین یک روش ایمنونوکروماتوگرافی بر پایه اتصال رقابتی می‌باشد. داروهایی که در نمونه ادرار ممکن است یافت شوند با داروهای حاصل از متابولیک کبید 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 ۳۰۰ ng/mL باشد محل‌های اتصال به آنتی‌بادی پوشیده شده با نانو ذرات طلا را پر نمی‌کند. آنتی‌بادی کنژوگه شده به وسیله بنزودیازپین موجود در ممبران جذب خواهد شد و از خود یک خط رنگی در ناحیه خط تست (T) بر جای خواهد گذاشت. چنانچه سطح بنزودیازپین بالای ۳۰۰ ng/mL باشد خط رنگی در ناحیه خط تست (T) ظاهر نخواهد شد زیرا همه محل‌های اتصال آنتی‌بادی‌های بنزودیازپین را اشغال می‌کند. بنابراین 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 آنتی‌بادی مونوکلونال ضد بنزودیازپین و ترکیب پروتئین - بنزودیازپین کنژوگه 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 ذخیره‌سازی محافظت شود.

02

جمع‌آوری و آماده‌سازی نمونه

+ جمع‌آوری ادرار: نمونه ادرار باید در یک ظرف تمیز و خشک 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.

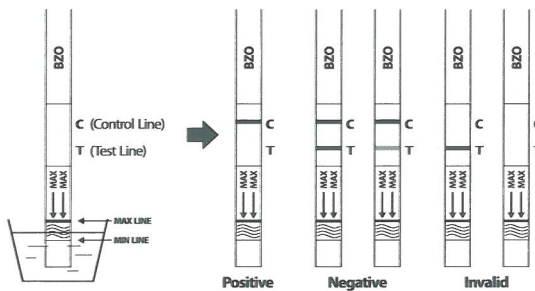
محتویات و لوازم مورد نیاز

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 بنزودیازپین کمتر از سطح قابل ردیابی (۳۰۰ 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 بنزودیازپین بالای سطح قابل ردیابی (۳۰۰ 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

۱. 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 / اسپکترومتری (GC/MS) متد ترجیحی برای تایید نتایج این تست می‌باشد.
۲. احتمال خطا در این روش یا تکنیک وجود دارد. همان طور که مواد مداخله کننده 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

Oxazepam Concentration (ng/mL)	n per site	LOT A		LOT B		LOT 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 ادراری

به ۱۵ نمونه ادرار با وزن مخصوص کم، نرمال و بالا، Oxazepam با غلظت‌های ۱۵۰ ng/mL و ۴۵۰ ng/mL اضافه شد. سپس نمونه‌های خالص و نمونه‌های با غلظت مشخص Oxazepam توسط تست بنزودیازپین 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 ۱۵۰ ng/mL و ۴۵۰ ng/mL Oxazepam اضافه گردید. pH تنظیم شده ادرار با تست رپید بنزودیازپین 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 Oxazepam انجام شد. ترکیبات زیر هیچ تداخل واکنشی با نتایج تست بنزودیازپین در غلظت ۱۰۰ µg/mL را نشان نداد.

Acetaminophen	Deoxycorticosterone	MDE	β-Phenylethylamine
Acetophenetidin	Dextromethorphan	Meperidine	Phenylpropanolamine
N-Acetylprocainamide	Diclofenac	Meprobamate	Prednisolone
Acetylsalicylic acid	Diffunisal	Methadone	Prednisone
Aminopyrine	Digoxin	L-Methamphetamine	Procaine
Amitypyline	Diphenhydramine	Methoxyphenamine	Promazine
Amobarbital	Doxylamine	(±) - 3,4-Methylenedioxy-	Promethazine
Amoxicillin	Ecgonine	amphetamine	D,L-Propranolol
Ampicillin	Ecgonine methylester	(±) - 3,4-Methylenedioxy-	D-Propoxyphene
L-Ascorbic acid	(-)-ψ-Ephedrine	methamphetamine	D-Pseudoephedrine
D,L-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

07

Atropine	Naloxone	Ranitidine	Sulindac
Benzilic acid	Estrone-3-sulfate	Naltrexone	Salicylic acid
Benzoic acid	Ethyl-p-aminobenzoate	Naproxen	Secobarbital
Benzoylcegonine	Fenoprofen	Niacinamide	Serotonin
Benzphetamine	Furosemide	Nifedipine	Sulfamethazine
Bilirubin	Gentisic acid	Norcodeine	Sulindac
(±) - Brompheniramine	Hemoglobin	Norethindrone	Tetracycline
Caffeine	Hydralazine	D-Norpropoxyphene	Tetrahydrocortisone,
Cannabidiol	Hydrochlorothiazide	Noscapine	3-Acetate
Cannabinol	Hydrocodone	D,L-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	D,L-Tyrosine
Chlorquine	3-Hydroxytyramine	Penicillin-G	Tolbutamide
Cholesterol	Ibuprofen	Pentazocine	Triamterene
Clomipramine	Imipramine	Pentobarbital	Trifluoperazine
Clonidine	Iproniazid	Perphenazine	Trimethoprim
Cocaethylene	(±) - Isoproterenol	Phencyclidine	Trimipramine
Cocaine	Isoxsuprine	Phenelzine	Tryptamine
Codeine	Ketamine	Phenobarbital	D,L-Tryptophan
Cortisone	Ketoprofen	Phentermine	Tyramine
(-) Cotinine	Labetalol	Trans-2-phenylcyclo-	Uric acid
Creatinine	Loperamide	propylamine hydrochloride	Verapamil
Maprotiline	L-Phenylephrine	Zomepirac	

منابع

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



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

تلفن: ۰۲۶ ۳۶۱۸ ۱۰۰۰

خدمات پس از فروش: ۰۲۶ ۳۲۱ ۲۲۰۷

ایمیل: info@hanagene.com

www.hanagene.com

۴. یک نتیجه مثبت نشان‌دهنده وجود مواد یا متابولیت‌های آن می‌باشد. یک نتیجه منفی ممکن است الزاماً 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 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: 300 ng/mL می‌باشد.

ویژگی اجرایی

صحت: نتایج بدست آمده از نوار تست بنزودیازپین هانازن با نتایج بدست آمده از کیت دیگر تجاری در دسترس، مقایسه شد. در مطالعه بر روی ۹۵ نمونه ادرار، شامل ۴۳ نمونه مثبت و ۵۲ نمونه منفی، کیت هانازن ۴۳ نمونه را مثبت و ۵۲ نمونه را منفی شناسایی کرد. نتایج بدست آمده در جدول زیر ارائه شده است.

Method	other BZO Rapid Test		Total Result	
	Results	Positive		Negative
The BZO Rapid Test Dipstick	Positive	43	0	43
	Negative	0	52	52
Total Result		43	52	95
% Agreement with this Rapid Test		> 99.9%	> 99.9%	> 99.9%

به منظور مقایسه نتایج کیت تشخیص سریع بنزودیازپین هانازن با روش (GC/MS)، ۲۵۰ نمونه کلینیکی (۱۲۳ نمونه مثبت و ۱۲۷ نمونه منفی) جمع‌آوری شد، که کیت هانازن ۱۲۱ نمونه را مثبت و ۱۲۶ نمونه را منفی شناسایی کرد. نتایج بدست آمده در جدول زیر ارائه شده است.

Method	GC/MS		Total Result	
	Results	Positive		Negative
The BZO Rapid Test Dipstick	Positive	121	1	122
	Negative	2	126	128
Total Result		123	127	250
% Agreement with GC/MS		98.4%	99.2%	98.8%

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

05

۰ ng/mL و ۱۵۰ ng/mL و ۲۲۵ ng/mL و ۳۰۰ ng/mL و ۳۷۵ ng/mL و ۴۵۰ ng/mL و ۹۰۰ 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.

Oxazepam Concentration (ng/mL)	Percent of Cut-off	n	Visual Result	
			Negative	Positive
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	300	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 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 کد گذاری شده حاوی غلظت Oxazepam معین بر اساس روش (GC/MS) در حد ۲۵۰ ng/mL، ۰ درصد بالا و پایین حد مینیمم تشخیص و ۵۰ درصد بالا و پایین حد مینیمم تشخیص ۳۰۰ ng/mL در هر مرکز استفاده شد.

06